

EVALUACIÓN DE LOS MÉTODOS ANALÍTICOS USADOS EN EL
LABORATORIO DE ANÁLISIS QUÍMICO Y AGUAS DE LA UNIVERSIDAD DE
NARIÑO PARA DETERMINAR FÓSFORO TOTAL EN AGUAS Y LIXIVIADOS
CON BASE EN LA NTC-ISO/IEC 17025 : 2005

PAULA ANDREA PÁEZ ORDÓÑEZ
YANHA DORACELLY ORTIZ BURBANO

UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
DEPARTAMENTO DE QUIMICA
SAN JUAN DE PASTO
2015

EVALUACIÓN DE LOS MÉTODOS ANALÍTICOS USADOS EN EL
LABORATORIO DE ANÁLISIS QUÍMICO Y AGUAS DE LA UNIVERSIDAD DE
NARIÑO PARA DETERMINAR FÓSFORO TOTAL EN AGUAS Y LIXIVIADOS
CON BASE EN LA NTC- ISO/IEC 17025: 2005

PAULA ANDREA PÁEZ ORDÓÑEZ
YANHA DORACELLY ORTIZ BURBANO

Trabajo de Grado presentado como requisito parcial para optar al título de
Químicas

Directora
MARY LUZ VALENCIA ENRIQUEZ
Química

Co-director
JUÁN JOSÉ LOZADA CASTRO
Dr. en Química Analítica

UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
DEPARTAMENTO DE QUIMICA
SAN JUAN DE PASTO
2015

“Las ideas y conclusiones aportadas en la tesis de grado, son responsabilidad exclusiva de los autores”

Artículo 1 del Acuerdo No. 324 de Octubre 11 de 1966, emanado por el Honorable Consejo directivo de la Universidad de Nariño.

Nota de Aceptación

Mary Luz Valencia Enriquez
Directora

Juan José Lozada Castro
Co-Director

Nelson Hurtado
Jurado

Freddy Pantoja
Jurado

San Juan de Pasto, Octubre de 2015

AGRADECIMIENTOS

A nuestra directora la Química Mary Luz Valencia y a nuestro co-director el profesor Juan José Lozada Castro por su asesoría, apoyo constante y sus oportunas sugerencias.

A la Sección de Laboratorios y Equipos y al Dr Germán Chavez por el aporte de los recursos requeridos para la realización de nuestro trabajo de grado; al personal que labora en él por su apoyo y constante ayuda.

Al Químico David Arturo Perdomo, la Química Diana María Gómez y al personal que trabaja en el Laboratorio de Análisis Químico y Aguas, las Químicas Catherine Melo y Angélica Ordoñez y al auxiliar de Laboratorio el Sr Pedro Tobar por su permanente colaboración.

A los profesores del Departamento de Química por haber aportado en nuestra formación académica.

A familiares, amigos y todas las personas que de alguna u otra manera contribuyeron en la realización de este trabajo de grado.

RESUMEN

Se evaluaron los métodos utilizados en el Laboratorio de Análisis Químico y Aguas de la Universidad de Nariño, para el análisis de fósforo total en aguas y lixiviados, con base en la NTC-ISO/IEC 17025:2005 “Requisitos Generales para la Competencia de Laboratorios de Ensayo y de Calibración”.

La metodología se estructuró en 2 fases: En la primera, se realizó un diagnóstico de la situación actual del Laboratorio con respecto al parámetro de fósforo total, mediante la ejecución de una auditoría interna con base en la NTC-ISO/IEC 17025:2005, resultando el 82% del cumplimiento de los requisitos de gestión. Respecto a los requisitos técnicos, fue evidente el incumplimiento del numeral 5.4 de la norma, referente a la validación de los métodos y a la estimación de la incertidumbre.

En la segunda fase, para cumplir con los requisitos técnicos se validaron los métodos colorimétricos Cloruro estañoso y Ácido ascórbico usados para el análisis de fósforo total, mediante la estimación de los parámetros de desempeño; además de evaluar el efecto matriz y estimar la incertidumbre. Como resultado, para el análisis de fósforo total por los dos métodos colorimétricos, se obtuvieron adecuados niveles de precisión, exactitud y linealidad en el intervalo de concentraciones comprendido entre 0,1 y 1,2mg de P/L; aunque el método del ácido ascórbico presentó una mejor linealidad y mayor sensibilidad; el porcentaje de efecto matriz calculado estuvo entre 99 y 101%, demostrando que no es significativo el efecto matriz en cada muestra analizada; se compararon los métodos analíticos validados, obteniéndose como resultado que no existen diferencias estadísticamente significativas entre éstos y se comprobó que la incertidumbre debida a la concentración de fósforo total obtenida a partir de la curva de calibración y la incertidumbre de la precisión de las muestras contribuyeron aunque no de manera significativa, a la incertidumbre de medición.

PALABRAS CLAVES: Sistemas de calidad, auditoría interna, validación del método analítico, estimación de la incertidumbre.

ABSTRACT

The methods used in the Chemical Analysis and Water Laboratory of University of Nariño, for analysis of total phosphorus in water and leachate, were evaluated based on the NTC-ISO / IEC 17025:2005 "General Requirements for the Competence of Testing and Calibration Laboratories."

The methodology was structured in two phases: In the first, a diagnosis of the current situation of the laboratory with respect to the parameter of total phosphorus, by performing an internal audit based on the NTC-ISO / IEC 17025: 2005, resulting in 82% compliance management requirements. With regard to technical requirements, it was apparent breach of section 5.4 of the rule concerning the method validation and uncertainty estimation.

In the second phase, to meet the technical requirements colorimetric methods stannous chloride and ascorbic acid used for the analysis of total phosphorus, by estimating performance parameters were validated; besides evaluating the matrix effect and estimate the uncertainty. As a result, adequate levels of precision, accuracy and linearity was obtained within the range of concentrations comprised between 0.1 and 1,2mgP / L for total phosphorus analysis by two colorimetric methods; although ascorbic acid method presented better linearity and greater sensitivity; the percentage of matrix effect was calculated between 99 and 101%, demonstrating that the matrix is not significant effect in each sample analyzed; validated analytical methods were compared, resulting in no statistically significant difference was found between them and the uncertainty due to total phosphorus concentration obtained from the calibration curve and accuracy uncertainty they contributed samples although not significantly to the measurement uncertainty.

KEY WORDS: Quality systems, internal audit, validation of the analytical method, uncertainty estimation.

CONTENIDO

	Pág.
RESUMEN	6
INTRODUCCION	24
1. OBJETIVOS	25
1.1. OBJETIVO GENERAL	25
1.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS	25
2. ESTADO DE ARTE	26
2.1. LA INFRAESTRUCTURA DE LA CALIDAD Y LA EVALUACION DE LA CONFORMIDAD	26
2.1.1. Infraestructura de la calidad	26
2.1.2. Evaluación de la conformidad	27
2.1.3. Normalización Técnica	28
2.1.4. Metrología	28
2.1.5. Acreditación	29
2.1.6. Laboratorios de ensayo	29
2.2. SISTEMAS DE CALIDAD	29
2.2.1. NORMAS ISO	30
2.2.1.1. NTC-ISO/IEC 17025	31
2.2.1.2. Estructura de la NTC-ISO/IEC 17025	32
2.2.1.3. Documentación del sistema de gestión de un laboratorio según la NTC-ISO/IEC 17025	34
2.2.1.4. Implementación de la NTC-ISO/IEC 17025. Acreditación de Laboratorios – Competencia Técnica	36
2.3. SECCION DE LABORATORIOS Y EQUIPOS DE LA UNIVERSIDAD DE NARIÑO	36
2.3.1. Acreditación del Laboratorio de Análisis Químico y Aguas	37
2.4. EFECTOS DE LA PRESENCIA DE FOSFORO EN EL AGUA	39
2.5. TECNICAS DE ANALISIS INSTRUMENTAL	41
2.5.1. Espectrofotometría de absorción	41
2.6. ANALISIS DE FOSFORO TOTAL EN AGUA Y LIXIVIADOS	43
2.6.1. Método colorimétrico del Cloruro Estañoso	43
2.6.2. Método colorimétrico del Ácido Ascórbico	44
2.7. VALIDACIÓN DE METODOS ANALITICOS	44
2.7.1. Validación del método	45
2.7.2. Parámetros de desempeño para el proceso de validación	45
2.7.2.1. Intervalo lineal e intervalo de trabajo	45
2.7.2.2. Sensibilidad	47

2.7.2.3. Límite de Detección (LOD) y de Cuantificación (LOQ)	49
2.7.2.3.1. Límite de Detección (LOD)	49
2.7.2.3.2. Límite de Cuantificación (LOQ)	49
2.7.2.4. Precisión	51
2.7.2.4.1. Repetibilidad	51
2.7.2.4.2. Reproducibilidad	51
2.7.2.5. Efecto Matriz	55
2.7.2.6. Exactitud	58
2.7.2.7. Incertidumbre de los resultados	60
2.7.2.8. Control de Calidad Interno. Elaboración de una carta de control	68
2.7.2.9. Matriz AMEF en la aplicación de procedimientos analíticos	69
2.8. ANTECEDENTES	70
3. METODOLOGÍA	72
3.1. Consideraciones Generales	72
3.2. FASES DE LA INVESTIGACIÓN	72
3.2.1. Fase 1. Diagnóstico de la situación actual del laboratorio con respecto al sistema de calidad	72
3.2.2. Fase 2. Validación de los Métodos Analíticos	79
3.2.2.1. Toma de la muestra	79
3.2.2.2. Validación y comparación de los métodos analíticos para la determinación de fósforo total en aguas crudas, aguas residuales y lixiviados.	80
3.2.2.2.1. Matriz AMEF para el análisis de Fosforo Total en aguas y lixiviados	81
3.2.2.2.2. Plan de validación	82
3.2.2.2.3.. Materiales y equipos	83
3.2.2.2.4. Reactivos	85
3.2.2.2.5. Procedimiento de los métodos analíticos	88
3.2.2.2.6. Parámetros de desempeño que se evalúan para la validación de los métodos analíticos	91
4.RESULTADOS Y DISCUSIÓN	97
4.1. FASE 1. DIAGNÓSTICO DE LA SITUACIÓN ACTUAL DEL LABORATORIO CON RESPECTO AL SISTEMA DE CALIDAD	97
4.1.1. Auditoria Interna NTC – ISO/IEC 17025	97
4.1.2. Mejoramiento continuo del Sistema de Gestión del Laboratorio	103
4.2. FASE 2. VALIDACIÓN DE LOS MÉTODOS ANALÍTICOS	105
4.2.1. Validación y comparación de los métodos analíticos: Método del Cloruro Estañoso y Método del Ácido Ascórbico	105
4.2.1.1. Matriz AMEF para el análisis de Fósforo Total en aguas y Lixiviados	105
4.2.1.2. Validación y comparación de los métodos analíticos	107
4.2.1.2.1. Linealidad	108
4.2.1.2.2. Sensibilidad	118
4.2.1.2.3. Límite de Detección (LOD) y Límite de Cuantificación (LOQ)	119
4.2.1.2.4. Precisión	133

4.2.1.2.5. Efecto Matriz	139
4.2.1.2.6. Exactitud	140
4.2.1.2.7. Estimación de la incertidumbre de medición de Fósforo total	145
CONCLUSIONES	157
APORTES	159
RECOMENDACIONES	160
BIBLIOGRAFIA	161
ANEXOS	168

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Componentes de una Infraestructura de Calidad (IC)	27
Figura 2. Evaluación de la conformidad bajo una Infraestructura de Calidad	28
Figura 3. Tipología típica de la documentación del sistema de gestión de calidad de un laboratorio	35
Figura 4. Visión global de las actividades típicas de auditoría	74
Figura 5. Fases del proceso de realización de auditorías internas del Sistemas de Gestión de Calidad	75
Figura 6. Formato Lista de verificación NTC-ISO/IEC 17025:2005	76
Figura 7. Formato Solicitud de Acciones de Mejora, Preventivas, Correctivas o Correctoras.	78
Figura 8. Balanza analítica OHAUS	83
Figura 9. Espectrofotómetro Pharo 300	84
Figura 10. Espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 11	84
Figura 11. Purificador de agua tipo 2	84
Figura 12. Proceso de digestión con ácido perclórico – Emisión de humos	88
Figura 13. Cambio de coloración de las soluciones por la adición de NaOH 6N	89
Figura 14. Desarrollo del color - Método del Cloruro Estañoso Concentración de 0,02ppm de Fósforo.	90
Figura 15. Desarrollo del color - Método del Ácido Ascórbico Concentración de 0,02ppm de Fósforo.	90

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Capítulo Cuarto de la NTC-ISO/IEC 17025:2005. Requisitos relativos a la Gestión	32
Tabla 2. Capítulo Quinto de la NTC-ISO/IEC 17025:2005. Requisitos Técnicos	34
Tabla 3. Relación entre los valores de concentración y su correspondiente fracción de masa	52
Tabla 4. Criterios de aceptación para el método de adición de patrón	60
Tabla 5. Convenciones de la Lista de verificación NTC-ISO/17025	77
Tabla 6. Requisitos para la toma y preservación de las muestras	80
Tabla 7. Puntaje Ocurrencia	81
Tabla 8. Puntaje Severidad	81
Tabla 9. Puntaje Detección	82
Tabla 10. Puntaje NPR	82
Tabla 11. Especificaciones de los equipos	85
Tabla 12. Composición media para Agua Cruda, Agua Residual y Lixiviado	86
Tabla 13. Composición de las matrices de referencia preparadas para Agua Cruda, Agua Residual y Lixiviado	86
Tabla 14. Parámetros de desempeño que se evalúan para la validación de los métodos analíticos	91
Tabla 15. Evaluación de los Requisitos de Gestión de la NTC-ISO/IEC 17025	98

Tabla 16. Evaluación de los Requisitos Técnicos de la NTC-ISO/IEC 17025	99
Tabla 17. Descripción de los numerales de la NTC-ISO-IEC 17025:2005 con los Hallazgos No Conformes y Oportunidades de Mejora durante la auditoría interna con respecto a los parámetros acreditados y fósforo total	102
Tabla 18. Descripción de los numerales de la NTC-ISO-IEC 17025:2005 con los Hallazgos No Conformes encontrados durante la auditoría externa con respecto a los parámetros acreditados	104
Tabla 19. Puntaje Matriz AMEF para el análisis de Fósforo Total en aguas y Lixiviados	106
Tabla 20. Resultados obtenidos en el estudio de la linealidad para el Método colorimétrico del Cloruro Estañoso y determinados en los dos equipos espectrofotométricos (Pharo 300 y Perkin Elmer Lambda 11)	108
Tabla 21. Resultados obtenidos en el estudio de la linealidad para el Método colorimétrico del Ácido Ascórbico y determinados en los dos equipos espectrofotométricos (Pharo 300 y Perkin Elmer Lambda 11)	108
Tabla 22. Parámetros estadísticos	110
Tabla 23. Valores de la Prueba estadística t	110
Tabla 24. Resumen estadístico	111
Tabla 25. Análisis de Varianza (ANOVA)	112
Tabla 26. Parámetros estadísticos	114
Tabla 27. Valores de la Prueba estadística t	115
Tabla 28. Resumen estadístico	116
Tabla 29. Análisis de Varianza (ANOVA)	117
Tabla 30. Valores de los factores de respuesta y de la pendiente para los métodos colorimétricos del Cloruro estañoso y del Ácido ascórbico	118
Tabla 31. Lecturas de las absorbancias de los blancos con agua tipo 2 realizadas durante cinco días – Método colorimétrico: Cloruro Estañoso y Equipos espectrofotométricos: Pharo 300 y Perkin Elmer	

Lambda 11.	119
Tabla 32. Lectura de las absorbancias de los blancos con agua tipo 2 realizadas durante cinco días – Método colorimétrico: Ácido Ascórbico y Equipos espectrofotométricos: Pharo 300 y Perkin Elmer Lambda 11	120
Tabla 33. Lectura de las absorbancias medidas a partir de los blancos de referencia de Agua Cruda, de Agua Residual y de Lixiviados – Método colorimétrico: Cloruro Estañoso y Equipos espectrofotométricos: Pharo 300 y Perkin Elmer Lambda 11	120
Tabla 34. Lectura de las absorbancias medidas a partir de los blancos de referencia de Agua Cruda, de Agua Residual y de Lixiviados – Método colorimétrico: Ácido Ascórbico y Equipos espectrofotométricos: Pharo 300 y Perkin Elmer Lambda	121
Tabla 35. Variables evaluadas para el ANOVA	122
Tabla 36. Comparación de las señales emitidas por el blanco preparado con agua tipo 2 y los blancos de referencia de agua cruda, de agua residual y de lixiviados	122
Tabla 37. Señal mínima	124
Tabla 38. Límites de detección (LOD) y Límites de cuantificación (LOQ) según el método 1	124
Tabla 39. Límites de detección (LOD) y Límites de cuantificación (LOQ) según el método 2 basado en la curva de calibración	126
Tabla 40. Límite de detección (LOD) y Límites de cuantificación (LOQ) según el método 2 basado en la desviación estándar del blanco	127
Tabla 41. Resultados obtenidos para la evaluación del Límite de cuantificación estimado – Método colorimétrico: Cloruro Estañoso	128
Tabla 42. Resultados obtenidos para la evaluación del Límite de cuantificación estimado – Método colorimétrico: Ácido Ascórbico	128
Tabla 43. Resultados obtenidos en los análisis de las soluciones de 0,1ppm preparadas con las matrices de referencia de Agua Cruda, de Agua Residual y de Lixiviados – Método colorimétrico: Cloruro Estañoso y Equipos espectrofotométricos: Pharo 300 y Perkin Elmer Lambda 11	130

Tabla 44. Resultados obtenidos en los análisis de las soluciones de 0,1ppm preparadas con las matrices de referencia de Agua Cruda, de Agua Residual y de Lixiviados – Método colorimétrico: Ácido Ascórbico y Equipos espectrofotométricos: Pharo 300 y Perkin Elmer Lambda 11	131
Tabla 45. Variables para el Análisis de Varianza	132
Tabla 46. Verificación de Varianza	132
Tabla 47. Análisis de Varianza (ANOVA)	133
Tabla 48. Resultados obtenidos en el estudio de repetibilidad – Día 1 – Método del Cloruro Estañoso	134
Tabla 49. Resultados obtenidos en el estudio de repetibilidad – Día 2 – Método del Cloruro Estañoso	134
Tabla 50. Resultados obtenidos en el estudio de repetibilidad – Día 1 – Método del Ácido Ascórbico	135
Tabla 51. Resultados obtenidos en el estudio de repetibilidad – Día 2 – Método del Ácido Ascórbico	136
Tabla 52. Resultados obtenidos en el estudio de reproducibilidad – Día 1 y Día 2 – Métodos colorimétricos: Cloruro Estañoso y Ácido Ascórbico – Equipos: Perkin Elmer Lambda 11 y Pharo 300.	136
Tabla 53. Variables para la evaluación de la reproducibilidad	137
Tabla 54. Análisis de Varianza (ANOVA) – Concentración 0,1ppm de Fósforo	138
Tabla 55. Verificación de Varianza	138
Tabla 56. Análisis de Varianza (ANOVA) – Concentración 0,5ppm de Fósforo	138
Tabla 57. Verificación de Varianza	138
Tabla 58. Análisis de Varianza (ANOVA) – Concentración 1,0ppm de Fósforo	138
Tabla 59. Verificación de Varianza	139
Tabla 60. Porcentaje Efecto Matriz	139

Tabla 61. Resultados obtenidos para la determinación de la exactitud a partir del análisis de muestras reales, patrones y muestras adicionadas - Método colorimétrico: Cloruro Estañoso y Equipo espectrofotométrico: Pharo 300	140
Tabla 62. Resultados obtenidos para la determinación de la exactitud a partir del análisis de muestras reales, patrones y muestras adicionadas - Método colorimétrico: Cloruro Estañoso y Equipo espectrofotométrico: Perkin Elmer Lambda 11	141
Tabla 63. Resultados obtenidos para la determinación de la exactitud a partir del análisis de muestras reales, patrones y muestras adicionadas - Método colorimétrico: Ácido Ascórbico y Equipo espectrofotométrico: Pharo 300	141
Tabla 64. Resultados obtenidos para la determinación de la exactitud a partir del análisis de muestras reales, patrones y muestras adicionadas - Método colorimétrico: Ácido Ascórbico y Equipo espectrofotométrico: Perkin Elmer Lambda 11	142
Tabla 65. Porcentajes de recuperación	142
Tabla 66. Determinación del sesgo	143
Tabla 67. Comparación ANOVA	144
Tabla 68. Fuentes de incertidumbre para el análisis de Fósforo Total	145
Tabla 69. Resultados de la estimación de la incertidumbre de la medición de KH_2PO_4 pesada y de la resolución de la balanza.	146
Tabla 70. Incertidumbre estándar de los átomos K, H, P y O	146
Tabla 71. Resultados incertidumbre debida a la preparación de la solución de 10ppm de fósforo.	147
Tabla 72. Resultados incertidumbre debida a la preparación de la solución de 1ppm de fósforo.	148
Tabla 73. Incertidumbre asociada con la reproducibilidad de la solución de 1ppm de Fósforo	149
Tabla 74. Incertidumbrelativa combinada de la solución de 1ppm de Fósforo	149

Tabla 75. Incertidumbre asociada con la concentración de fósforo total medido en el instrumento a través de la curva de calibración	149
Tabla 76. Incertidumbre de la precisión de las muestras de agua cruda	150
Tabla 77. Incertidumbre relacionada con el factor de dilución	150
Tabla 78. Incertidumbre de la precisión de las muestras de agua residual	151
Tabla 79. Incertidumbre relacionada con el factor de dilución	151
Tabla 80. Incertidumbre de la precisión de las muestras de lixiviado	152
Tabla 81. Resultados incertidumbre combinada	152
Tabla 82. Desarrollo del factor ($UC \cdot [P_T]_{\text{muestra}} \cdot 2$)	153

ÍNDICE DE GRÁFICAS

	Pág.
Gráfica 1. Curva de Ringbom	43
Gráfica 2. Resultados de la revisión con la lista de verificación NTC-ISO/IEC 17025. Requisitos de Gestión	100
Gráfica 3. Resultados de la revisión con la lista de verificación NTC-ISO/IEC 17025. Requisitos Técnicos	101
Gráfica 4. Comparación de los hallazgos encontrados en las Auditorías Interna y Externa	105
Gráfica 5. Curva de calibración Método colorimétrico del Ácido Ascórbico – Espectrofotómetro Pharo 300	109
Gráfica 6. Curva de calibración Método colorimétrico del Ácido Ascórbico – Espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 11	109
Gráfica 7. Curva de calibración Método colorimétrico del Cloruro Estañoso – Espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 11	109
Gráfica 8. Curva de calibración Método colorimétrico del Cloruro Estañoso – Espectrofotómetro Pharo 300	109
Gráfica 9. Curva de Ringbom Método colorimétrico del Ácido Ascórbico – Espectrofotómetro Pharo 300	113
Gráfica 10. Curva de Ringbom Método colorimétrico del Ácido Ascórbico – Espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 11	113
Gráfica 11. Curva de Ringbom Método colorimétrico del Cloruro Estañoso – Espectrofotómetro Pharo 300.	114
Gráfica 12. Curva de Ringbom Método colorimétrico del Cloruro Estañoso – Espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 11	114
Gráfica 13. Contribuciones a la incertidumbre del análisis de Fósforo Total - Agua Cruda - Método Ácido Ascórbico - Equipo Perkin Elmer	

Lambda 11	154
Gráfica 14. Contribuciones a la incertidumbre del análisis de Fósforo Total – Agua Cruda - Método Ácido Ascórbico – Equipo Pharo 300	154
Gráfica 15. Contribuciones a la incertidumbre del análisis de Fósforo Total – Agua Cruda - Método Cloruro Estañoso – Equipo Perkin Elmer Lambda 11	154
Gráfica 16. Contribuciones a la incertidumbre del análisis de Fósforo Total – Agua Cruda - Método Cloruro Estañoso – Equipo Pharo 300	154
Gráfica 17. Contribuciones a la incertidumbre del análisis de Fósforo Total – Agua Residual - Método Ácido Ascórbico – Equipo Perkin Elmer Lambda 11	155
Gráfica 18. Contribuciones a la incertidumbre del análisis de Fósforo Total – Agua Residual - Método Ácido Ascórbico – Equipo Pharo 300	155
Gráfica 19. Contribuciones a la incertidumbre del análisis de Fósforo Total – Agua Residual - Método Cloruro Estañoso – Equipo Perkin Elmer Lambda 11	155
Gráfica 20. Contribuciones a la incertidumbre del análisis de Fósforo Total – Agua Residual - Método Cloruro Estañoso – Equipo Pharo 300	155
Gráfica 21. Contribuciones a la incertidumbre del análisis de Fósforo Total - Lixiviado - Método Ácido Ascórbico – Equipo Perkin Elmer Lambda 11	155
Gráfica 22. Contribuciones a la incertidumbre del análisis de Fósforo Total - Lixiviado - Método Ácido Ascórbico – Equipo Pharo 300	155
Gráfica 23. Contribuciones a la incertidumbre del análisis de Fósforo Total - Lixiviado - Método Cloruro Estañoso – Equipo Perkin Elmer Lambda 11	156
Gráfica 24. Contribuciones a la incertidumbre del análisis de Fósforo Total - Lixiviado - Método Cloruro Estañoso – Equipo Pharo 300	156

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
Anexo A. Plan de Auditoría	168

ABREVIATURAS

LC	Límite de confianza
LOQ	Límite de cuantificación
LOD	Límite de detección
SGC	Sistema de Gestión de Calidad
IEC	International Electrotechnical Commission (En español: Comisión Electrotécnica Internacional)
ISO	International Organization for Standardization (En español: Organización Internacional de Normalización)
NTC	Norma Técnica Colombiana
ICONTEC	Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación
IDEAM	Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales
CASCO	Comité de la Evaluación de la Conformidad
APHA	American Public Health Association
AWWA	American Water Works Association
WEF	Water Environmental Federation
PHVA	Planificar-Hacer-Verificar-Actuar
ANOVA	Análisis de Varianza
CV	Coefficiente de Variación
FDA	Food and Drug Administration
IC	Infraestructura de la Calidad
SI	Cumplimiento del requisito

NO	Incumplimiento del requisito
DNI	Requisito que se encuentra documentado pero no implementado
NDI	Requisito que no se encuentra documentado pero si implementado
ONAC	Organismo Nacional de Acreditación de Colombia.
EN	Norma Europea (En español)
WG	Working Group
GP	Gestión Pública
SD	Desviación estándar
Ea	Error absoluto
C_M	Concentración promedio analizada en la muestra no adicionada
C_{MA}	Concentración analizada en la muestra adicionada
C_A	Concentración conocida adicionada a la muestra
DQO	Demanda Química de Oxígeno
DBO_5	Demanda Bioquímica de Oxígeno
SST	Sólidos Suspendidos Totales
ST	Sólidos Totales
NPR	Número Proritario de Riesgo
CARDER	Corporación Autónoma Regional de Risaralda
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación
Propilven	Propilveno de Venezuela

SNCA	Subsistema Nacional de Calidad
IC	Infraestructura de Calidad
DTP	Fósforo Total Disuelto (En español)
UV	Ultravioleta
EMAS	Empresa Metropolitana de Aseo
CORPONARIÑO	Corporación Autónoma Regional de Nariño
DBO ₅	Demanda Bioquímica de Oxígeno
LOQ M1 E1	Límite de cuantificación - Método del Ácido ascórbico – Espectrofotómetro Pharo 300
LOQ M1 E2	Límite de cuantificación - Método del Ácido ascórbico – Espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 11
LOQ M2 E1	Límite de cuantificación - Método del Cloruro Estañoso – Espectrofotómetro Pharo 300
LOQ M2 E2	Límite de cuantificación - Método del Cloruro Estañoso – Espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 11
AC	Agua Cruda
AR	Agua Residual
L	Lixiviado
Mat	Matriz
Ref	Referencia

INTRODUCCIÓN

El Laboratorio de Análisis Químico y Aguas de la Universidad de Nariño, el cual hace parte de los Laboratorios de Proyección Social, funciona en la Sección de Laboratorios y Equipos, se encuentra en la categoría de Laboratorios de ensayo, realiza análisis que están enfocados a la caracterización de aguas residuales, crudas, potables y lixiviados, atendiendo la demanda de los sectores académico, industrial y de la comunidad en general, cumpliendo las exigencias de un sistema de gestión de calidad basado en la NTC-ISO/IEC 17025:2005. Los servicios que presta este laboratorio, deben cumplir con requisitos de norma para suministrar información confiable sobre las características de la matriz analizada, requiriendo de procedimientos de control y aseguramiento de la calidad que garanticen la calidad de los ensayos y permitan demostrar la competencia técnica del laboratorio.

Este laboratorio ofrece a la comunidad servicios de análisis fisicoquímico y microbiológico en la matriz agua, para la determinación de diferentes parámetros que puedan alterar su calidad según su uso. Sin embargo, dentro de estos parámetros, el laboratorio no cuenta con suficiente evidencia estadística para el análisis de fósforo total en aguas y lixiviados, debido a que no se han realizado las validaciones correspondientes de los métodos analíticos usados para su determinación y no cuenta con una implementación completa de la NTC-ISO/IEC 17025; lo que ha limitado su capacidad técnica y de gestión. Es así como el laboratorio en busca del mejoramiento continuo y el mantenimiento de su sistema de calidad, ve la necesidad de evaluar los métodos analíticos usados en él para determinar fósforo total en aguas y lixiviados con base en la NTC-ISO/IEC 17025:2005 “Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración”. Esto implica la evaluación completa de todo el sistema de calidad del laboratorio, la validación de la metodología y la estimación de la incertidumbre del parámetro fósforo total para dar cumplimiento a los requerimientos establecidos por esta norma internacional. Por lo tanto, esta situación contribuirá sin duda alguna a conseguir mejoras en la calidad y eficiencia del servicio prestado por el laboratorio, a aumentar la competitividad y a generar resultados confiables, ya que todos sus procedimientos se llevarán a cabo de una manera sistemática, segura, confiable y con altos índices de calidad.

De esta manera, este proyecto se consolida como un aporte fundamental para lograr los propósitos planteados consistentes en contribuir con el proceso de implementación de la NTC-ISO/IEC 17025 en el Laboratorio de Análisis Químico y Aguas, asegurando la capacidad técnica y de gestión de los procedimientos llevados a cabo dentro de él.

1. OBJETIVOS

1.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar los métodos analíticos usados en el Laboratorio de Análisis Químico y Aguas de la Universidad de Nariño para determinar fósforo total en aguas y lixiviados con base en la NTC- ISO/IEC 17025.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Diagnosticar la situación actual del Laboratorio de Análisis Químico y Aguas de la Universidad de Nariño para la determinación de fósforo total en aguas y lixiviados con respecto al cumplimiento de la NTC-ISO/IEC 17025.

2. Elaborar un plan de acción para el Laboratorio de Análisis Químico y Aguas de la Universidad de Nariño con base en la NTC-ISO/IEC 17025.

3. Validar los métodos analíticos usados en el Laboratorio de Análisis Químico y Aguas de la Universidad de Nariño para la determinación de fósforo total en aguas y lixiviados con base en la NTC-ISO/IEC 17025.

4. Comparar los métodos analíticos usados en el Laboratorio de Análisis Químico y Aguas de la Universidad de Nariño para la determinación de fósforo total en aguas y lixiviados.

2. ESTADO DEL ARTE

En Colombia, la infraestructura de la calidad es el Subsistema Nacional de Calidad (SNCA), que es un conjunto organizado de instituciones públicas y privadas de normas, procedimientos, e instrumentos legales y técnicos, con los que el Estado y el mercado buscan:

- Incrementar la competitividad
- Facilitar el comercio
- Ofrecer al consumidor garantías e información
- Proteger la vida, la salud y el medio ambiente
- Promover el mayor desarrollo de la ciencia y la tecnología.

Estos objetivos definen dos campos de acción del sistema nacional de calidad: el primero de seguridad y protección, y el otro, de competitividad y productividad.

Lograr esos objetivos requiere de la armoniosa articulación de varios componentes: normalización técnica, elaboración y expedición de reglamentos técnicos, evaluación de la conformidad, metrología y acreditación. Estos componentes son los que definen la infraestructura de calidad.

2.1. LA INFRAESTRUCTURA DE LA CALIDAD Y LA EVALUACIÓN DE LA CONFORMIDAD

2.1.1. Infraestructura de la Calidad

Esta es una compleja red de estándares, regulaciones técnicas, metrología, certificación, laboratorios de ensayo, organismos de acreditación y de evaluación de la conformidad, a los que se agregan además, las tecnologías de gestión y control de la calidad.¹

Las funciones básicas de un sistema de infraestructura de la calidad (IC) comprenden un conjunto de técnicas y procedimientos para codificar, analizar, normalizar y medir diferentes aspectos de un producto o proceso productivo.²

La figura 1 presenta el esquema de los cinco elementos claves que conforman una infraestructura de calidad: normalización, metrología, acreditación, certificación y laboratorios de ensayos.

¹ VALENCIA, Jorge y Grupo de Investigación en Innovación y Empresarismo (GUIE). Estudio del impacto de la evaluación de la Conformidad en Colombia. Proyecto de investigación. Medellín: Universidad EAFIT Escuela de Administración, 2012. 127p.

² ORGANISMO NACIONAL DE ACREDITACIÓN DE COLOMBIA. La Acreditación en Colombia. Ministerio de Comercio, Industria y Turismo. Bogotá D.C.: El Organismo, 2010. 36p.

Figura 1. Componentes de una Infraestructura de Calidad (IC)³



A continuación se explica brevemente cada uno de estos componentes.

2.1.2. Evaluación de la Conformidad

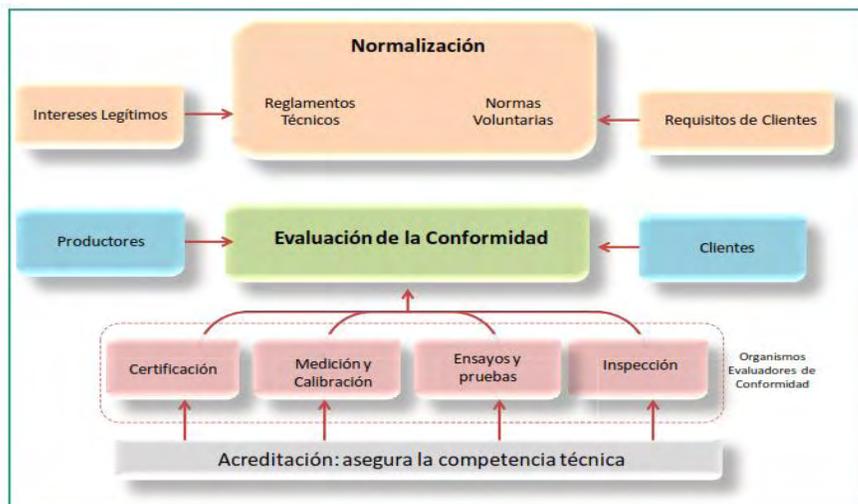
Un aspecto transversal a la infraestructura de la calidad es la **evaluación de la conformidad** que se basa en pruebas o ensayos sistemáticos para determinar si un sistema, proceso, producto/servicio o persona cumplen con ciertos requisitos especificados en normas u otros documentos considerados como estándares. La norma NTC-ISO/IEC 17000 define la evaluación de la conformidad como la *“demostración de que se cumplen los requisitos especificados relativos a un producto, proceso, sistema, persona u organismo”*⁴

En la figura 2 se representa la relación entre la evaluación de la conformidad y la infraestructura de la calidad

³VALENCIA, Jorge y Grupo de Investigación en Innovación y Empresarismo (GUIE). Op. cit., p. 12

⁴ INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMALIZACIÓN Y CERTIFICACIÓN. Norma Técnica Colombiana NTC-ISO17000. Evaluación de la conformidad: vocabulario y principios generales, Bogotá. ICONTEC. 2005, 16 p.

Figura 2. Evaluación de la conformidad bajo una infraestructura de la calidad⁵



2.1.3. Normalización Técnica

Las normas y los reglamentos técnicos son el producto de la normalización.

Las normas técnicas establecen reglas, guías o características para productos o procesos y para métodos de producción; implican transferencia de tecnología, propenden por el desarrollo sostenible y facilitan el comercio a través de la promoción de la seguridad, la calidad y la compatibilidad técnica. Estas normas son de carácter voluntario.

A diferencia de las normas técnicas, los reglamentos técnicos si son obligatorios. Mediante un reglamento técnico el Estado establece como obligatorios requisitos o características que un determinado producto debe cumplir, o las condiciones del proceso o método de producción.⁶

2.1.4. Metrología

Se refiere a la tecnología y ciencia de la medición, por intermedio de ella se pone a disposición magnitudes y métodos de medición que permiten contribuir a la definición de estándares (normas voluntarias y reglamentos técnicos) y evaluar su cumplimiento. La metrología asegura a través de las calibraciones de los instrumentos de medición que se conozca y pueda verificar la exactitud de una medición.

⁵ Ibid., p. 13

⁶ ORGANISMO NACIONAL DE ACREDITACIÓN DE COLOMBIA. Op. cit., p.9-10

2.1.5. Acreditación

La norma NTC-ISO/IEC 17000 define la acreditación como la “atestación de tercera parte relativa a un organismo de evaluación de la conformidad que manifiesta la demostración formal de su competencia para llevar a cabo tareas específicas de evaluación de la conformidad”⁷. Para entender mejor esta definición es importante precisar que la *atestación* se entiende como la declaración sobre los resultados obtenidos a partir de la revisión del cumplimiento de los requisitos especificados y la *tercera parte* es un organismo independiente e imparcial con respecto a la entidad objeto de la declaración.

La entidad que realiza la acreditación se reconoce con el nombre de organismo nacional de acreditación y generalmente es único para cada país. Para Colombia, el organismo de acreditación es la ONAC, Organismo Nacional de Acreditación de Colombia y el Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales (IDEAM), una entidad gubernamental dependiente del Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible.

2.1.6. Laboratorios de ensayo

Son entidades públicas o privadas que ofrecen servicios de ensayo, análisis o pruebas de laboratorios.

Los laboratorios de ensayos pueden ser organizaciones independientes que prestan sus servicios a cualquier organización o persona que lo requiera o también pueden ser parte de una organización más grande cuya finalidad no es la prestación de servicios de ensayos, sin embargo requieren de ellos para el control de calidad de sus procesos y productos.⁸

2.2. SISTEMAS DE CALIDAD

La calidad, es sinónimo de una buena gestión empresarial, en donde se entregan productos y se prestan servicios competitivos. Los sistemas de calidad son un conjunto de acciones planificadas necesarias para garantizar la confianza de que un bien o un servicio conseguirá satisfacer las necesidades y expectativas de los clientes. En los sistemas administrativos se realiza la planificación, control y manejo de los recursos humanos relacionados con los sistemas de gestión de calidad. Estos sistemas son conjuntos interrelacionados con planes, políticas, procesos, procedimientos, personal y tecnología que se necesitan para cumplir con los objetivos de una organización. Los sistemas técnicos se refieren al aseguramiento de la calidad en el diseño de los bienes, a la planificación, aseguramiento, control, mejoramiento y diseño de los procesos de manufactura, o

⁷ Ibid., p. 5.

⁸ VALENCIA, Jorge y Grupo de Investigación en Innovación y Empresarismo (GUIE). Op. cit., p. 19

de prestación de servicios, controlando los materiales que se consumen en la producción intermedia y los bienes terminados o el servicio final entregado.

Los sistemas de calidad se establecen para: mejorar el desempeño, coordinación y producción, lograr un enfoque directo hacia los objetivos de la organización y hacia sus clientes, conseguir y mantener la calidad de los bienes y servicios con el fin de satisfacer las necesidades implícitas y explícitas de los clientes, abrir nuevas posibilidades en el mercado y lograr la permanencia en él, y por último, estar en capacidad de competir con organizaciones más grandes.⁹

La implementación de los Sistemas de Gestión de la Calidad, se realiza dentro de algún marco de trabajo que pueda servir como referente para que la misma no se lleve a cabo de manera poco estructurada, incompleta o arbitraria.¹⁰

Para establecer los sistemas de calidad, se han diseñado una serie de especificaciones estándares y normas internacionales; de las cuales las más utilizadas a nivel mundial son las editadas y revisadas por la Organización Internacional de Normalización (ISO).¹¹ La importancia de este fenómeno es cada vez mayor; actualmente el número de laboratorios que utilizan la NTC ISO 17025:2005 como guía para implementar y obtener la acreditación del sistema de calidad se incrementa año tras año.

La aparición de estas normas facilita la armonización de los enfoques de los sistemas de calidad y su utilización se orienta en dos líneas definidas. Por un lado, como guía o directriz para el desarrollo, implementación y evaluación interna y externa del sistema de calidad y por otro como marco de referencia para la obtención de resultados confiables y certeros que satisfagan las necesidades de los clientes: primicia de la acreditación.¹²

2.2.1. NORMAS ISO

ISO (Organización Internacional de Normalización) e IEC (Comisión Electrotécnica Internacional) forman el sistema especializado para la normalización mundial. Los organismos nacionales miembros de ISO e IEC participan en el desarrollo de las Normas Internacionales a través de comités técnicos establecido por la organización respectiva, para tratar con campos particulares de la actividad técnica.

⁹RODRIGUEZ, Julieth Fernanda. Documentación de los Requisitos de equipos de la Norma NTC-ISO/IEC 17025:2005 para el Laboratorio EMICAL LTDA. Trabajo de grado Microbiólogo Industrial. Bogotá, D.C. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. Carrera de Microbiología Industrial, 2008. 46p.

¹⁰ PARRA, Deiby y POPÓ Oscar. Documentación de la Norma Técnica Colombiana ISO/IEC 17025 en el Laboratorio de Metrología Topográfica en la Universidad del Quindío. Trabajo de grado Ingeniero Industrial. Pereira: Universidad Tecnológica de Pereira. Facultad de Ingeniería Industrial, 2010. 65p.

¹¹RODRIGUEZ, Julieth Fernanda.Op. cit., p. 15

¹² PARRA, Deiby y POPÓ Oscar.Op. cit., p 39

Los comités técnicos de ISO e IEC, colaboran en campos de interés mutuo. Otras organizaciones internacionales públicas y privadas, vinculadas a ISO e IEC, también participan en el trabajo. En el campo de la evaluación de la conformidad, el Comité de ISO para la evaluación de la Conformidad (CASCO) es responsable del desarrollo de Normas y Guías.

La Norma ISO/IEC 17025 fue preparada por el Comité de ISO para la evaluación de la Conformidad (CASCO); fue circulada para su voto a los organismos nacionales tanto de ISO como de IEC, y fue aprobada por ambas organizaciones. Esta segunda edición anula y reemplaza a la primera edición (ISO/IEC 17025:1999), la cual ha sido revisada técnicamente.¹³

2.2.1.1. NTC ISO/IEC 17025

Para los laboratorios de ensayo y calibración existe la norma NTC ISO 17025 (18 de Abril de 2001) que opera en concordancia con NTC ISO 9001 y NTC ISO 9002. Aunque a diferencia de la NTC ISO 9001, la norma ISO 17025 hace más énfasis en los elementos del sistema de la calidad y en los temas de competencia técnica pertinentes a las operaciones de un laboratorio.¹⁴

La norma ISO vigente para acreditar laboratorios es la ISO/ IEC 17025/1999 “General requirements for competence of calibration and testing laboratories”. En mayo del 2005, ISO publicó la versión 2005; el cambio más importante es el requisito explícito referente al mejoramiento continuo del sistema de gestión y a la comunicación con el cliente.

La nueva norma ISO 17025:2005, “Requisitos generales relativos a la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración” sustituye a la Guía ISO/IEC 25 y a la norma europea EN45000. Contiene todos los requisitos que los laboratorios de ensayo y calibración tienen que cumplir si desean demostrar que disponen de un sistema de gestión de la calidad, que son técnicamente competentes y que son capaces de producir resultados técnicamente válidos, además requiere que se documenten todos los procedimientos que se lleven a cabo en un laboratorio que preste sus servicios y que hacen parte de los requisitos tanto de gestión como técnicos.¹⁵

La NTC ISO/IEC 17025: 2005, es utilizada por los laboratorios cuando desarrollan los sistemas de gestión para sus actividades de calidad, administrativas y técnicas.

¹³ INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMALIZACIÓN Y CERTIFICACIÓN. Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración. NTC-ISO/IEC 17025. Bogotá D.C.: El instituto, 2005. 35 p.

¹⁴ Ibid., p. 1

¹⁵ RODRIGUEZ, Op. cit., p. 17

También puede ser utilizada por los clientes del laboratorio, las autoridades reglamentarias y los organismos de acreditación cuando confirman o reconocen la competencia de los laboratorios. Esta norma cubre los ensayos y las calibraciones que se realizan utilizando métodos normalizados, no normalizados y creados por el propio laboratorio.¹⁶

2.2.1.2. Estructura de la NTC-ISO/IEC 17025.

De acuerdo a las notas aclaratorias que se hacen en la misma norma internacional ISO 17025:2005, el término “sistema de gestión” se refiere a los sistemas de gestión, administrativos y técnicos, que rigen las actividades de un laboratorio.¹⁷ Partiendo de esto, la NTC-ISO/IEC 17025 tiene un total de siete apartados o capítulos; los más importantes son el cuarto y el quinto y constituyen la parte medular de la norma. El capítulo cuarto está dedicado a especificar los requisitos para una gestión bien estructurada de la calidad (Requisitos de gestión) y el quinto se refiere a los requisitos para demostrar la competencia técnica del tipo de ensayo y/o calibración que realiza el laboratorio y la validez técnica de sus datos y resultados (Requisitos técnicos).¹⁸ A continuación se mencionan de manera general en las tablas 1 y 2 estos capítulos, haciendo referencia a los numerales y nomenclatura de la misma:

Tabla 1. Capítulo Cuarto de la NTC-ISO/IEC 17025:2005. Requisitos relativos a la Gestión.¹⁹

Requisitos de la NTC-ISO/IEC 17025:2005	
4. Requisitos de Gestión	Especificaciones generales
4.1. Organización	Contar con personal para identificar desviaciones del sistema de calidad, e iniciar acciones para prevenir o minimizar tales desviaciones. Contar con políticas y procedimientos para asegurar protección de información (almacenamiento y transmisión electrónica). Designar personal sustituto para el personal directivo clave.
4.2. Sistema de Gestión	Implementar un sistema de calidad adecuado para el alcance de sus actividades. Documentar políticas, programas, procedimientos e instrucciones solo en la extensión necesaria para asegurar la calidad.

¹⁶ VALDIVIA, Rodes. Papel del INIMET en el aseguramiento metrológico y medio ambiente. En: Boletín Científico Técnico INIMET. Instituto Nacional de Investigaciones en Metrología. Julio, 2011. núm. 2, p. 38-44

¹⁷ INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMALIZACIÓN Y CERTIFICACIÓN. Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración. NTC-ISO/IEC 17025. Op. cit., p. 1

¹⁸ GUTIERREZ Norma. Op. cit., p. 27-32

¹⁹ INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMALIZACIÓN Y CERTIFICACIÓN. Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración. NTC-ISO/IEC 17025. Op. cit., p. 2-12.

Tabla 1. (Continuación)

Requisitos de la NTC-ISO/IEC 17025:2005	
4. Requisitos de Gestión	Especificaciones generales
4.3. Control de los documentos	Especificar la clase de documentos que deben ser controlados. Elaborar una lista maestra u otro documento para evitar el uso de documentos obsoletos o invalidados. Identificar los documentos con elementos específicos.
4.4. Revisión de los pedidos, ofertas y contratos	Contar con procedimientos para revisión de solicitudes, ofertas y contratos.
4.5. Subcontratación de ensayos y calibraciones	Contar con las consideraciones para llevar a cabo una subcontratación de servicios con laboratorios competentes.
4.6. Compras de Servicios y Suministros	Políticas y procedimientos para la selección y adquisición de servicios y suministros.
4.7. Servicio al cliente	Cooperar con los clientes para aclarar sus solicitudes. Permitir al cliente un adecuado seguimiento del desempeño del laboratorio durante la prestación de los servicios.
4.8. Quejas	Política y procedimientos para la atención de quejas.
4.9. Control del trabajo de ensayo y/o calibración no conforme	Política y procedimientos para implementar acciones correctivas cuando existen no conformidades con procedimientos o requisitos del cliente.
4.10. Mejora	El laboratorio debe mejorar continuamente la eficacia de su sistema de gestión mediante el uso de la política de la calidad, los objetivos de la calidad, los resultados de las auditorías, el análisis de los datos, las acciones correctivas y preventivas y la revisión por la dirección.
4.11. Acción Correctiva	Política, procedimiento y designación de responsabilidades para implementar acciones correctivas.
4.12. Acción Preventiva	Identificar las fuentes potenciales de no conformidad técnica o administrativa. Procedimientos con la aplicación de controles para asegurar la efectividad.
4.13. Control de registros	Procedimiento para identificación, acceso y mantenimiento de registros técnicos y administrativos.
4.14. Auditorías Internas	Procedimiento para realizar auditorías periódicas, dirigidas a todos los elementos del sistema de calidad, incluyendo las actividades de ensayo y/o calibración

Tabla 2. Capítulo Quinto de la NTC-ISO/IEC 17025:2005. Requisitos Técnicos.²⁰

Requisitos de la NTC-ISO/IEC 17025:2005	
5. Requisitos Técnicos	Especificaciones generales
5.1. Generalidades	Factores que determinan el desarrollo de las actividades del laboratorio. Tomar en cuenta los factores para desarrollar métodos y procedimientos relacionados con la competencia del laboratorio
5.2. Personal	Personal calificado con base en la educación apropiada, capacitación y destreza, según sea necesario.
5.3. Instalaciones y condiciones ambientales	Las condiciones ambientales no deben afectar adversamente la calidad de los servicios prestados. Detener las actividades del laboratorio cuando las condiciones ambientales comprometan los resultados.
5.4. Métodos de ensayo y calibración y validación de los métodos	Actividades que deben incluir los procedimientos de ensayo y/o calibración. Aplicar métodos publicados en normas, textos o publicaciones científicas, según especificaciones de los fabricantes. Validar métodos no normalizados, desarrollados por el laboratorio o fuera de su alcance propuesto.
5.5. Equipos	Antes de ser puesto en servicio, el equipo utilizado debe ser calibrado o verificado.
5.6. Trazabilidad de las mediciones	Calibrar todo el equipo, incluyendo el usado para mediciones auxiliares como condiciones ambientales si tienen un efecto significativo.
5.7. Muestreo	Siempre que sea razonable, utilizar planes de muestreo basados en métodos estadísticos adecuados.
5.8. Manipulación de los ítems de ensayo y de calibración	Procedimientos para el manejo y transporte de los ítems de ensayo y calibración durante todo el proceso.
5.9. Aseguramiento de la calidad de los resultados de ensayo y de calibración	Procedimientos para supervisar la validez de los ensayos y calibraciones.
5.10. Informe de los resultados	Elementos mínimos que debe contener un informe de ensayo y/o calibración.

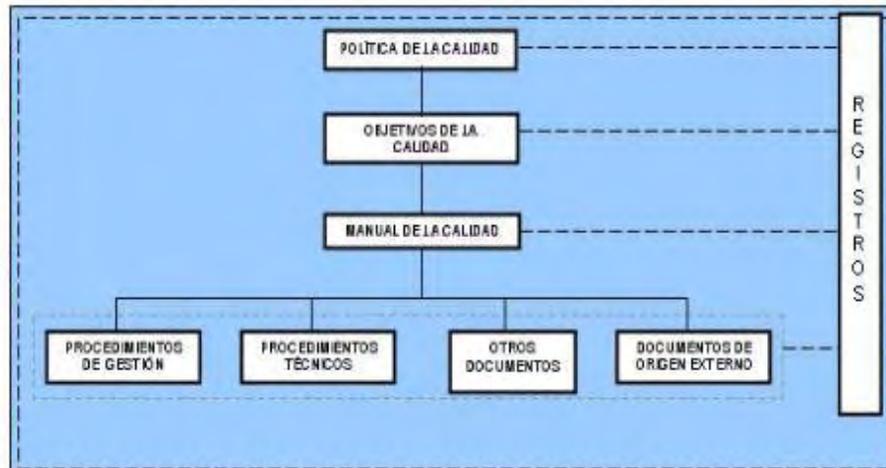
2.2.1.3. Documentación del Sistema de gestión de un laboratorio según la NTC-ISO/IEC 17025.

Partiendo del alcance de acreditación definido, el laboratorio debe establecer, implementar y mantener un sistema de gestión que sea apropiado a dicho alcance, el cual debe ser documentado tanto como sea necesario para asegurar la

²⁰ Ibid., p. 13-29.

calidad de los resultados.²¹ La figura 3 muestra la documentación del sistema de gestión para un laboratorio.

Figura 3. Tipología típica de la documentación del sistema de gestión para un laboratorio.²²



El manual de calidad es un documento que enuncia la política de calidad, los objetivos de calidad, el alcance del laboratorio y describe su sistema de calidad. En él se hace referencia a todos los demás manuales que lo acompañan. Un procedimiento es una manera especificada de efectuar una actividad.²³

Los procedimientos se dividen en dos: procedimientos de gestión y procedimientos técnicos. Los primeros dan respuesta a los requisitos administrativos y de calidad, los segundos prácticamente constituyen una compilación de conocimientos, habilidades, condiciones que ponen de manifiesto la capacidad del laboratorio para generar resultados técnicamente válidos.

Un registro es un documento que suministra evidencia objetiva de las actividades efectuadas o los resultados alcanzados.

Las guías son documentos que establecen recomendaciones o sugerencias. Los instructivos son documentos que contienen las instrucciones de trabajo; éstos se desarrollan y mantienen para describir el desempeño de un trabajo u operación de

²¹GUEVARA, Elia; SUAREZ Wilfredo y TAMAYO Pedro. El sistema de gestión en laboratorios de calibración para su acreditación. En: Ciencias Holguín. Octubre, 2014. vol. 20. No.4, p. 1-13.

²²Ibid., p. 5.

²³LÓPEZ, Martha. Optimización del Sistema de Calidad Analítica en el Laboratorio de Análisis de Aguas de la CARDER. Pasantía Línea de profundización en Ingeniería Ambiental. Manizales: Universidad Nacional de Colombia, Departamento de Ingeniería Química, Programa de Ingeniería Química, 2003. 278p.

un equipo que pudiera verse afectado adversamente por la falta de tales instrucciones.²⁴

2.2.1.4. Implementación de la NTC ISO/IEC 17025. Acreditación de Laboratorios - Competencia Técnica

Para poder llevar a cabo la implementación de esta norma en un laboratorio, éste debe ser una entidad que se pueda considerar legalmente responsable, debe llevar a cabo las actividades de ensayo y calibración, haciendo que cumpla tanto con los requerimientos establecidos en la norma ISO 17025, como con las necesidades de los clientes, de las entidades regulatorias y las organizaciones que les puede brindar reconocimiento. De igual forma debe disponer de personal de dirección y técnico con la autoridad y recursos necesarios para llevar a cabo sus obligaciones, debe contar con disposiciones que demuestren que la gestión y el personal están libres de cualquier presión interna o externa de cualquier tipo; deben contar con políticas y procedimientos que aseguren la no divulgación de la información de los clientes, que eviten cualquier actividad que afecten la competencia, imparcialidad, criterio o integridad operacional del laboratorio.

Para lograr una acreditación frente a la norma ISO 17025 y poder llegar a establecer, implementar y mantener el sistema de calidad, el laboratorio debe documentar las políticas, sistemas, programas e instrucciones para que de esta manera se asegure la veracidad de los resultados de ensayo o calibración. Una de las actividades que no se puede dejar a un lado es el control de los documentos de cualquier laboratorio puesto que los documentos que se manejan en cada una de sus labores, hacen parte de su Sistema de Calidad.²⁵

2.3. SECCIÓN DE LABORATORIOS Y EQUIPOS DE LA UNIVERSIDAD DE NARIÑO

La Sección de Laboratorios y Equipos de la Universidad de Nariño es una unidad académica y administrativa, adscrita a la Vicerrectoría Académica, que coordina y administra la prestación de los servicios de laboratorios. Su objetivo central es apoyar con calidad y compromiso social, los procesos misionales de docencia, investigación y proyección social. De esta forma, la Sección integra la educación e investigación universitarias a las necesidades regionales y nacionales. Para cumplir este objetivo, y para garantizar la calidad, seguridad y confiabilidad de sus servicios, la Sección cuenta con veinticinco laboratorios de docencia, y una planta física moderna para la investigación y la venta de servicios, así como de un equipo humano capacitado y con experiencia en las diferentes áreas. Entre los laboratorios que hacen parte de la Sección se encuentran:

²⁴GUEVARA, Elia; SUAREZ Wilfredo y TAMAYO Pedro. Op. cit., p. 6-7.

²⁵RODRIGUEZ, Op. cit., p. 19

- El Laboratorio de Análisis Químico y Aguas
- El Laboratorio de Bromatología y Abonos Orgánicos
- El Laboratorio de Suelos e Insumos Agrícolas
- El Laboratorio de Histopatología
- El Laboratorio de Microbiología de Alimentos
- El Laboratorio de Cromatografía
- El Laboratorio de Materiales, Suelos y Pavimentos

Dentro de sus políticas de calidad, la Sección de Laboratorios y Equipos tiene el compromiso de prestar un servicio de calidad para la plena satisfacción de sus usuarios. Con este fin, se ciñe a los requerimientos de calidad, seguridad y confiabilidad tanto del Sistema de Gestión de Calidad de la Universidad de Nariño, como de las normas y los estándares nacionales e internacionales (NTC GP 1000 e ISO/IEC 17025). Este compromiso implica garantizar:

1. La existencia de recursos apropiados y suficientes.
2. La competencia técnica y humana de sus funcionarios.
3. La confiabilidad de sus resultados.
4. La seguridad e integridad personal de usuarios y funcionarios.
5. La sostenibilidad del Sistema de Gestión de Calidad.
6. La sostenibilidad de la Acreditación del Laboratorio de Análisis Químico y Aguas.
7. La sostenibilidad de la Certificación del Laboratorio de Bromatología y Abonos Orgánicos.

2.3.1. Acreditación del Laboratorio de Análisis Químico y Aguas.

Dentro del marco legal, un requisito establecido por el Estado es que los laboratorios ambientales como lo es el Laboratorio de Análisis Químico y Aguas de la Universidad de Nariño, se encuentren acreditados. Para ello el decreto 1600 del 27 de julio de 1994²⁶ establece en el artículo 5 “De los servicios de Laboratorio para apoyar la Gestión e Información Ambiental”, que los laboratorios del sector público o privado que produzcan información de carácter físico, químico y biótico y quieran pertenecer a la red de laboratorios para apoyar la gestión ambiental deben estar en proceso de intercalibración y normalización; es decir, y de acuerdo al parágrafo 1, “Los laboratorios de la red estarán sometidos a un sistema de acreditación e intercalibración analítica, que validará su metodología y confiabilidad, mediante sistemas referenciales establecidos por el IDEAM”. Así mismo, en el parágrafo 2, “Los laboratorios que produzcan información cuantitativa física, química y biótica para los estudios o análisis ambientales requeridos por las autoridades ambientales competentes, y los demás que produzcan información de carácter

²⁶COLOMBIA. PRESIDENCIA DE LA REPÚBLICA. Decreto 1600 (27, julio, 1994). Por el cual se reglamenta el sistema nacional ambiental, SINA, en relación con los sistemas nacionales de investigación ambiental y de información ambiental. Bogotá, D.C.: La Presidencia, 1994. 5p.

oficial, relacionada con la calidad del medio ambiente y de los recursos naturales renovables, deberán poseer el certificado de acreditación correspondiente otorgado por los laboratorios nacionales públicos de referencia del IDEAM, con lo cual quedarán inscritos en la red”.

En el mismo contexto, en la resolución 0176 de 2003²⁷, expedida por el IDEAM, se establece el nuevo procedimiento de acreditación, al cual debe ceñirse el Laboratorio de Análisis Químico y Aguas si quiere proyectarse hacia la comunidad generando datos reales que demuestren la calidad y confiabilidad de todos sus procedimientos tanto técnicos como de gestión.

Finalmente, en busca de la mejora de los estándares del sector ambiental el IDEAM (Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales) expidió la resolución No. 0063, mediante la cual se establece un periodo de transición para la aplicación de la Norma NTC/ISO/IEC 17025:2005 por parte de los laboratorios ambientales acreditados e interesados en el proceso de acreditación.²⁸ La acreditación por la NTC/ISO/IEC 17025:2005 ofrece la confianza en la competencia técnica de un laboratorio para actividades específicas.

En cumplimiento de esta normatividad, en el 2011, la Sección de Laboratorios y Equipos logró que el Laboratorio de Análisis Químico y Aguas fuera acreditado en los parámetros de Demanda Química de Oxígeno (DQO), Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO₅), Sólidos Suspendidos Totales (SST), Sólidos Totales (ST), Grasas y Aceites y pH, en la NTC ISO/IEC 17025:2005, por el Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales de Colombia (IDEAM), del Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial, según Resolución No. 0042 del 25 de enero del 2011.²⁹ Este es el primer laboratorio de los departamentos de Nariño, Cauca y Putumayo en lograr esta acreditación.

La función principal de un laboratorio de carácter ambiental, como lo es el Laboratorio de Análisis Químico y Aguas, es realizar pruebas y ensayos requeridos para determinar que un producto cumple con los requisitos y especificaciones establecidas y aprobadas por la Autoridad Nacional de Control durante el proceso de registro y licencia del producto en cuestión. Este apoyo es

²⁷ COLOMBIA. INSTITUTO DE HIDROLOGÍA, METEOROLOGÍA Y ESTUDIOS AMBIENTALES. Resolución No. 0176 (31, octubre, 2003). Por la cual se derogan las resoluciones 0059 de 2000 y 0079 de 2002 y se establece el nuevo procedimiento de acreditación de laboratorios ambientales en Colombia. Bogotá, D. C.: El Instituto, 2003. 11p.

²⁸ COLOMBIA. INSTITUTO DE HIDROLOGÍA, METEOROLOGÍA Y ESTUDIOS AMBIENTALES. Resolución No. 0063 (30, marzo, 2007). Mediante la cual se establece un periodo de transición para la aplicación de la Norma NTC/ISO/IEC 17025-2005 por parte de los laboratorios ambientales acreditados e interesados en el proceso de acreditación ante el IDEAM. Bogotá, D. C.: El Instituto, 2007. 3p.

²⁹ COLOMBIA. INSTITUTO DE HIDROLOGÍA, METEOROLOGÍA Y ESTUDIOS AMBIENTALES. Resolución No. 0042 (25, enero, 2011). Por la cual se otorga al Laboratorio de Análisis Químico y Aguas de la Universidad de Nariño, la acreditación en la NTC ISO/IEC 17025:2005. Bogotá, D.C.: El Instituto, 2011. 7p.

efectivo si el servicio y los resultados que se suministran son válidos, confiables y describen en forma precisa las propiedades de las muestras analizadas.

Por lo tanto con la implementación del sistema de calidad en el Laboratorio de Análisis Químico y Aguas basado en la NTC-ISO/IEC 17025:2005 se podrá cumplir con los siguientes objetivos:

- 1) prevenir riesgos
- 2) detectar desviaciones
- 3) corregir fallas
- 4) mejorar eficiencia
- 5) reducir costos.

Además, puesto que en el Laboratorio de Análisis Químico y Aguas se realizan ensayos a través de métodos estandarizados internacionalmente, la implementación de esta norma en el laboratorio traería múltiples beneficios, entre ellos el reconocimiento nacional e internacional de su competencia técnica.

2.4. EFECTOS DE LA PRESENCIA DE FÓSFORO EN EL AGUA

La contaminación del agua (ríos, lagos y mares) es producida, principalmente, por el vertimiento de aguas servidas, basuras, relaves mineros, productos químicos y desechos industriales. Las descargas municipales, industriales, agrícolas y los vertimientos de residuos oleosos de la actividad marítima y portuaria, así como la actividad petrolera, son las principales fuentes de contaminación y deterioro de las aguas; ocasionan la presencia de tóxicos orgánicos, metales pesados, sólidos suspendidos, microorganismos patógenos y nutrientes a los ambientes, los cuales afectan el bienestar de los ecosistemas y la calidad de vida de los grupos humanos.^{30,31}

La concentración de fosfatos en los cuerpos de agua superficial representa un problema debido a la reproducción geométrica de los organismos unicelulares que dependen del fósforo como fuente de alimentación.³²

En las aguas naturales y residuales, el fósforo se presenta mayoritariamente en forma de fosfatos. Estos son clasificados en ortofosfatos, fosfatos condensados (piro, meta y otros polifosfatos) y fosfatos enlazados orgánicamente. Los fosfatos

³⁰ SAN SEBASTIÁN, M.; ARMSTRONG, B.; & STEPHENS, C. La salud de mujeres cerca de pozos y estaciones de petróleo en Ecuador. En: Revista Panamericana de Salud Pública. Junio, 2001. vol. 9, no. 6. p. 375-385.

³¹ QUINTERO, L., RENDÓN, E., AGUDELO, Y., QUINTANA, S., & OSORIO, A. Determinación de indicadores para la calidad de agua, sedimentos y suelos, marinos y costeros en puertos colombianos. En: *Revista Gestión y Ambiente*, Enero, 2010. vol. 13, no. 3. p. 51-64.

³² DÍAZ, W., GONZAGA, B., & CONTRERAS, N. Determinación del coagulante que permita la máxima remoción de fosfatos en agua cruda del río Otún. En: *Revista Scientia Et Technica*. Mayo, 2007. vol. 13, no. 34. p. 607-612.

se encuentran en solución, en partículas o detritus o en cuerpos de organismos acuáticos y pueden provenir de diversas fuentes.³³

Entre las fuentes de fósforo de origen natural están los depósitos y rocas fosfóricas las cuales desprenden fósforo, en forma de ortofosfato principalmente, mediante erosión. Las fuentes antropogénicas de fósforo incluyen las aguas domésticas e industriales; las fuentes no puntuales están asociadas con la escorrentía de áreas agrícolas y domésticas. Una fracción del fósforo en los fertilizantes orgánicos e inorgánicos es removida parcialmente por las plantas y otra fracción es arrastrada por el agua trayendo como consecuencia la presencia de cantidades elevadas de este elemento en ríos y lagos.³⁴

Los organismos dependen del fósforo, que es esencial para su crecimiento (y puede ser el nutriente limitador del crecimiento); la descarga de aguas residuales brutas o tratadas, drenados agrícolas o ciertos residuos industriales a ese cuerpo de agua, puede estimular el crecimiento de micro y macrorganismos acuáticos fotosintéticos en grandes cantidades, lo cual puede alterar el balance de la vida en este medio.³⁵

Por otra parte, el fósforo es considerado como un parámetro crítico en la calidad del agua debido a su influencia en el proceso de eutrofización, de ahí la importancia de disponer de técnicas analíticas y de muestreo adecuadas para la determinación de la concentración de las diferentes especies que pueden estar disueltas en el agua, adsorbidas sobre partículas o asociadas con organismos acuáticos.³⁶

El fósforo puede estar en los cuerpos de agua, en solución o como un componente de las partículas en suspensión. El análisis colorimétrico de fósforo sólo funciona para ortofosfatos y, por tanto otras formas de fósforo deben ser convertidas a esta forma si se van a analizar.

El análisis del fósforo total incluye dos pasos principales en los métodos; inicialmente la conversión de otras formas de fósforo (polifosfatos y fosfatos orgánicos) en ortofosfato disuelto seguido por la determinación colorimétrica. El análisis de las diferentes formas de fósforo se obtiene por diferentes etapas de pretratamiento. El pretratamiento puede consistir en filtrado para eliminar la materia suspendida o diversas técnicas de digestión diseñados para oxidar materia orgánica.

³³ ROMERO, J. *Calidad del agua*, 3 ed. 2009. Bogotá, Colombia: Escuela Colombiana de Ingeniería.

³⁴ CALVO, G. Nueva metodología para valorar la calidad de las aguas superficiales para su uso como clase 2 en Costa Rica. En: *Revista Tecnología en Marcha*. Julio, 2013. vol. 26, no. 2. p. 9-19

³⁵ ROMERO, Op. cit., p. 8

³⁶ ARBOLEDA, J. *Teoría y práctica de la purificación del agua*. Bogotá, Colombia: Mc-Graw Hill, 2000. 596p.

Hay tres métodos de digestión principales: con ácido perclórico, el más drástico y lento; con ácidos nítrico y sulfúrico y con persulfato de amonio o potasio, el más sencillo.³⁷

Según la literatura, el método estándar para la determinación de fósforo, se basa en la reacción del fósforo con iones molibdeno y antimonio para formar un complejo el cual puede ser reducido utilizando cloruro de estaño o ácido ascórbico resultando una coloración azul característica que puede ser detectada mediante colorimetría.³⁸

2.5. TÉCNICAS DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL

2.5.1 Espectrofotometría de Absorción

Cuando se trata de bajas concentraciones, los análisis colorimétricos son muy apropiados y hay muchas determinaciones en el control de la calidad del agua que se pueden efectuar rápida y fácilmente con esta forma de análisis.

Para ser cuantitativo, un método colorimétrico debe basarse en la formación de un producto completamente soluble con un color estable. El color se puede medir por varios métodos, uno de ellos, el método fotométrico el cual se basa en la medición de la radiación electromagnética, absorbida, reflejada o emitida por una sustancia presente en un fluido.

Generalmente, el análisis es muy rápido, una vez que se ha establecido el método, a no ser que se quiera un tratamiento previo para eliminar las interferencias. El método es aplicable para réplicas de un mismo constituyente, como sucede en la rutina del análisis de control. Además el método en general, es muy adecuado para el análisis de trazas.

Es un método no destructivo de la muestra, lo que puede ser importante cuando el constituyente es muy valioso, como sucede en los programas de investigación.

Para que la concentración de una sustancia pueda ser determinada con base en su propiedad de absorber energía radiante, debe existir una correspondencia lineal entre su concentración y la magnitud de su absorción en alguna región del espectro electromagnético. Este requisito se expresa también diciendo que la sustancia debe cumplir la ley de Lambert-Beer, ecuación que expresa la relación matemática entre la concentración de una sustancia y la magnitud de su absorción de energía³⁹.

³⁷ AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION, WATER POLLUTION CONTROL FEDERATION. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 22th ed. Denver, 2012.10-159p.

³⁸ MURPHY, J. & RILEY, J. A modified single-solution method for the determination of phosphate in natural waters. En: Analytical Chimica Acta. Septiembre, 1962. vol. 27, no. p. 31-36.

³⁹ SKOOG, Douglas; WEST, Donald. Química analítica. 4 ed. Madrid, España: Mc Graw Hill, 1989. p. 648.

$A = \epsilon bc$ Ecuación 1

En donde ϵ es la absorptividad molar, b es el paso óptico o ancho de celda y c es la concentración de la muestra. La absorbancia es importante porque es directamente proporcional a la concentración de la especie que absorbe la luz en la muestra⁴⁰.

- **Determinación del rango óptimo de concentración**

Las gráficas de Ringbom consisten en graficar datos espectrofotométricos calibrados de un sistema que sigue con la ley de Beer, obteniéndose una curva sigmoidea al graficar el porcentaje de absorbancia ($1-T$ ó $100 - \%T$) en la ordenada y el logaritmo de la concentración en la abscisa.

La gráfica de Ringbom presenta dos aspectos útiles:

- Muestra a simple vista el intervalo de concentración donde el error analítico es mínimo, esto es el intervalo de concentración correspondiente a la porción prácticamente lineal de la pendiente;
- Puede evaluarse la precisión del análisis a cualquier concentración, o en cualquier ámbito de concentración.

- **Error relativo de concentración**

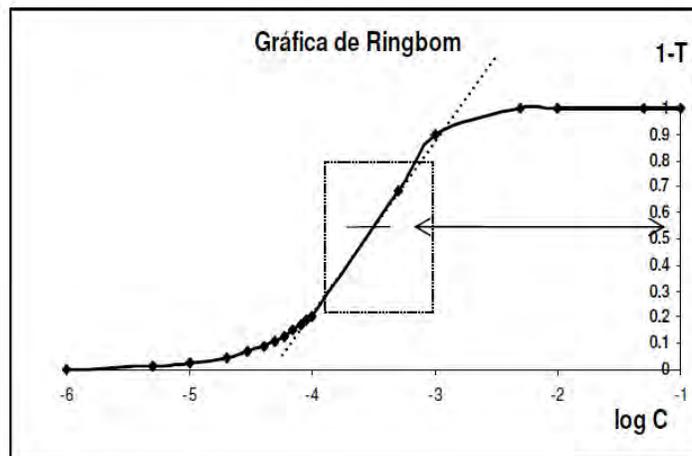
Los sistemas de medida tienen asociada una incertidumbre. Cada lectura tiene asociada una incertidumbre que se refleja sobre la concentración asociada a dicha lectura de transmitancia.

Las muestras y estándares deben prepararse en un intervalo de concentraciones que caiga dentro del intervalo de mínimo error por lectura.

Para determinar el intervalo de concentraciones adecuado para una curva de calibración con el menor error por lectura, se usan las curvas de Ringbom.

⁴⁰SÁNCHEZ, Diana. Validación de métodos para la determinación en aguas superficiales de metales alcalinos (sodio y potasio) por absorción atómica a la llama y alcalinotérreos (calcio y magnesio) por volumetría con EDTA. Colombia. [citado en 10 de Septiembre de 2010]. Disponible en Internet: <http://gemini.udistrital.edu.co/comunidad/estudiantes/dlilian/marco_4>

Gráfica 1. Curva de Ringbom⁴¹



En la gráfica de Ringbom, la zona lineal corresponde al intervalo de concentraciones de mínimo error por lectura y el punto de inflexión corresponde al valor del mínimo error.⁴²

Tratamiento de los datos espectrofotométricos

- Curvas de calibración
- Transmitancia (porcentual) frente a concentración
- Logaritmo de la transmitancia o absorbancia frente a la concentración

Diferentes sustancias, o la misma sustancia a diferentes longitudes de onda poseen absorvidades diferentes y dan lugar a líneas rectas de diferentes pendientes.

2.6. ANÁLISIS DE FÓSFORO TOTAL EN AGUAS Y LIXIVIADOS

Dado que el fósforo se puede presentar en combinación con materia orgánica, un método de digestión para determinar el fósforo total debe ser capaz de oxidar la materia orgánica eficazmente para liberar el fósforo como ortofosfato.

2.6.1. Método colorimétrico del Cloruro Estañoso

En el método del cloruro estañoso para la determinación de fósforo, se forma el ácido fosfomolibdico que posteriormente es reducido por el cloruro estañoso y forma un compuesto de molibdeno de color azul intenso, denominado "azul de fosfomolibdeno" que es proporcional a la concentración de fósforo y por tanto, se puede determinar cuantitativamente por un fotómetro a 690nm, después de los 10

⁴¹ AGUILAR, A y CAMPOS, A. Curva de Ringbom, determinación de la zona de trabajo, determinación de la concentración óptima. Química Analítica Instrumental. [citado en 3 de julio de 2015]. Disponible en internet: <<https://es.scribd.com/doc/54752750/Lab-Oratorio-2-Curva-d-Ringboom#>>

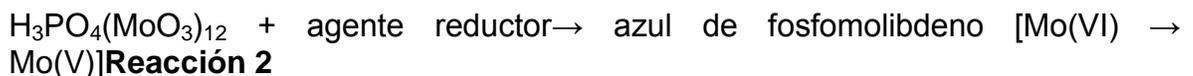
⁴²Ibid; 10p.

minutos de ser adicionado a las muestras y antes de los 30 minutos, esto debido a la inestabilidad del complejo formado.

2.6.2. Método colorimétrico del Ácido Ascórbico

Este método se aplica para la determinación de concentraciones de fósforo inorgánico u ortofosfatos. El molibdato de amonio y el tartrato antimonílico reaccionan con ortofosfato en medio ácido para formar un complejo antimonio-fosfomolibdato que, al reducirse con ácido ascórbico, produce un color azul intenso adecuado para mediciones fotométricas. El color es proporcional a la concentración de fósforo. El complejo no es estable y por lo tanto el análisis debe realizarse dentro de los 30 minutos después de añadir el molibdato de amonio y tartrato de potasio antimonio.⁴³

Ambos métodos colorimétricos se basan en la reacción del ión fosfato con molibdato, que da lugar a fosfomolibdato. Este último por reducción origina un compuesto cuya estructura exacta se desconoce, denominado “azul de fosfomolibdeno”.⁴⁴



Como se puede observar en las reacciones 1 y 2, el complejo azul de fosfomolibdeno se forma en un ambiente ácido y su espectro de absorbancia depende de la acidez, del tipo de reductor y de la concentración de fósforo. El ácido ascórbico y el cloruro estañoso son los reductores más comunes utilizados para determinar fósforo en aguas naturales.⁴⁵

2.7. VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS

2.7.1. Validación del Método

La validación es la confirmación a través del examen y el aporte de evidencias objetivas, de que se cumplen los requisitos particulares para un uso específico previsto.⁴⁶

⁴³ AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION, WATER POLLUTION CONTROL FEDERATION. Op. cit., p. 4-156.

⁴⁴ WORSFOLD, Paul J. Sampling, sample treatment and quality assurance issues for the determination of phosphorus species in natural waters and soils, En: Talanta. Octubre, 2004. vol. 66, no. p. 273-293.

⁴⁵ Ibid, p. 274.

⁴⁶ INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMALIZACIÓN Y CERTIFICACIÓN. Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración. NTC-ISO/IEC 17025, Op. cit., p. 17

En referencia a la validación de los métodos, la NTC-ISO/IEC 17025 indica en el apartado 5.4.5.2 que: El laboratorio debe validar los métodos no normalizados, los métodos que diseña o desarrolla, los métodos normalizados empleados fuera del alcance previsto, así como las ampliaciones y modificaciones de los métodos normalizados, para confirmar que los métodos son aptos para el fin previsto. La validación debe ser tan amplia como sea necesaria para satisfacer las necesidades del tipo de aplicación o del campo de aplicación dados. El laboratorio debe registrar los resultados obtenidos, el procedimiento utilizado para la validación y una declaración sobre la aptitud del método para el uso previsto⁴⁷.

2.7.2. Parámetros de desempeño para el proceso de validación.

2.7.2.1. Intervalo lineal e intervalo de trabajo

Linealidad es “la capacidad de un método analítico para dar resultados directamente proporcionales a la concentración de analito de la muestra, dentro de un intervalo determinado”. Se expresa como **la variación alrededor de la pendiente de la línea de regresión lineal o coeficiente de regresión lineal**. Se calcula basándose en la relación matemática (cálculo de regresión lineal) obtenida con base en muestras con concentraciones variables de analito a las cuales se les ha aplicado el ajuste matemático de mínimos cuadrados.⁴⁸

➤ Evaluación estadística de la linealidad

Para estudiar la linealidad se construyen curvas de calibrado de concentración contra respuesta analítica utilizando como mínimo tres disoluciones patrón con cinco concentraciones de analito.

Con los resultados del estudio de la linealidad se prepara una tabla relacionando las concentraciones x (variable independiente) y las respuestas y (variable dependiente). La relación entre ambas variables se expresa matemáticamente como una recta de regresión del tipo $y = m \cdot x + b$, donde m es el valor de la pendiente (asociada con la sensibilidad del método) y b el término independiente (asociado al error sistemático). En el análisis de regresión de una línea recta, el método que habitualmente se aplica es el de los mínimos cuadrados, el cual toma la suma de las desviaciones estándar al cuadrado de cada punto de la línea para minimizar el error y así obtener la línea de mejor ajuste⁴⁹.

El estudio de la linealidad no sólo implica una representación gráfica sino que es necesario realizar una comprobación estadística.

⁴⁷ Ibid, p. 17.

⁴⁸ GARCÍA, Encarnación. Optimización, validación y modelización de un proceso de fabricación de comprimidos. Desarrollo de una aplicación interactiva multimedia. Tesis doctoral. Barcelona: Universidad de Barcelona. Facultad de Farmacia. 2001. 166p.

⁴⁹ Ibid., p. 54

➤ Criterios de aceptación de linealidad

1. El coeficiente de correlación, preferentemente, debe ser mayor o igual que 0.995 (aunque puede encontrarse entre 0.980 y 0.990 según el método analítico).⁵⁰
2. Se considera que la mejor forma de indicar la linealidad del método es realizar un test t - Student en el cual se calcula la correlación lineal significativa (tr) a partir de la hipótesis nula de no correlación entre las magnitudes "x" y "y". Este test involucra los parámetros r y r² y se define según la expresión Prueba estadística de t, la cual es útil para comprobar si el coeficiente de correlación r es realmente significativo y se expresa mediante la siguiente ecuación:

$$t = \frac{|r|}{\sqrt{\frac{1-r^2}{n-2}}} \text{Ecuación 2}$$

Donde r corresponde al coeficiente de correlación, r² es el coeficiente de determinación y el valor de t obtenido se compara con el t tabulado al nivel de significación deseado, usando una prueba t de dos colas y n-2 grados de libertad.⁵¹

3. Intercepto y prueba de proporcionalidad

El intervalo de confianza del intercepto debe incluir el cero para cumplir con el requisito de proporcionalidad, como se exige para el cumplimiento de la ley de Lambert – Beer para métodos espectrofotométricos⁵². La prueba de proporcionalidad se puede determinar mediante una prueba de t considerando que el intercepto tiene que ser cero, utilizando la ecuación 3:

$$t \text{ calculado} = \left(\frac{b}{S_b} \right) \text{Ecuación 3}$$

Donde: b es valor del intercepto, Sb la desviación estándar del intercepto y debe ser menor que el valor tabulado de t - Student para el nivel de significación dado y n – 2 grados de libertad⁵³.

⁵⁰AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION, WATER POLLUTION CONTROL FEDERATION.Op. cit., p. 4-156.

⁵¹ MILLER Y MILLER, Op. cit., p. 118.

⁵²CASTILLO, Beatriz.; GONZÁLEZ, Rolando. Protocolo de validación de métodos analíticos para la cuantificación de fármacos. En: Revista Cubana de Farmacia. Abril, 1996. vol .30 n.1, p. 1561-2988.

⁵³ CÁRDENAS, Op. cit., p 13.

4. Criterio de aceptación cuantitativo

Se realiza un análisis de varianza ANOVA, empleando el contraste F de una cola para determinar si existe o no relación lineal entre Absorbancia y Concentración.

➤ Curva de Ringbom

Esta curva sirve para definir gráficamente el rango lineal de trabajo que cumpla con la ley de Beer. Para obtener el intervalo óptimo de concentraciones primero se construye la curva de Ringbom, que consiste en construir una gráfica de absorbancia ($100 - \%T$) vs logaritmo de concentración. Para la mayoría de los sistemas la curva de Ringbom corresponde a una curva en forma de S. La parte lineal de esta gráfica permite obtener el intervalo de concentraciones óptimo que presenta una relación lineal entre absorbancia y concentración.

2.7.2.2. Sensibilidad

La sensibilidad de un instrumento o método es una medida de su aptitud para discriminar entre pequeñas diferencias de concentración de analito.

Hay dos factores que limitan la sensibilidad: La pendiente de la curva de calibración y la reproducibilidad o precisión del sistema de medida. Al comparar dos métodos que tienen igual precisión, el que tiene la curva de calibración con mayor pendiente será el más sensible, y en el caso en que dos métodos tengan curvas de calibración con pendientes iguales, el que muestre la mejor precisión será el más sensible.⁵⁴

La sensibilidad está representada por la pendiente (m) de la curva de calibración ($y = a+mx$) y se puede determinar por un procedimiento clásico de mínimos cuadrados (para ajustes lineales), o experimentalmente, utilizando muestras que contienen diferentes concentraciones del analito. La sensibilidad puede ser determinada con la ayuda de la pendiente de la curva de calibración obtenida para la determinación del rango lineal. Una pendiente con un alto positivo (por ejemplo >1) o de bajo valor lineal negativo (por ejemplo <-1), indica que en promedio, el método es sensible. Cuanto mayor es la sensibilidad (pendiente/gradiente de la curva de calibración), es mejor el método para distinguir pequeños cambios en la concentración del analito.⁵⁵

⁵⁴ SKOOG, Douglas, HOLLER, F. James., y NIEMAN, Timothy. Principios de Análisis Instrumental. 5 ed. Madrid, España: McGraw-Hill, 2001. 1070p.

⁵⁵NATA.National Association of Testing Authorities.Guidelines for the validation and verification of quantitative and qualitative test methods.Octubre, 2013. 32p.

➤ Criterios de aceptación

Criterio de aceptación 1. Prueba de hipótesis para la pendiente

Utilizando el contraste de significación t de student, se realiza la prueba comparativa calculando el valor de $T_{\text{Calculado}}$ de la siguiente forma:

$$T_{\text{Calculado}} = \left(\frac{m}{Sm} \right) \text{ Ecuación 4}$$

Donde,

m: Pendiente de la curva de calibración

Sm: Desviación estándar de la pendiente. Este valor se obtiene a partir del análisis de varianza ANOVA que se realiza para la evaluación de la linealidad.

En el análisis de la pendiente se considera la prueba hipótesis nula $H_0: \mu = 0$, que permite verificar a partir del valor de t – Student, que la pendiente es diferente de cero. Si el valor calculado es mayor que el tabulado para el nivel de significación elegido, se rechaza la hipótesis nula y se acepta que la pendiente difiere significativamente de la horizontal y por tanto, se acepta que el modelo lineal permite explicar variaciones en la variable dependiente⁵⁶.

El valor T_{Tabulado} empleado para la comparación corresponde a un nivel de significación del 95% ($p=0,05$) y n-2 grados de libertad⁵⁷.

Criterio de aceptación 2.

Relación promedio Y/X cercana al valor de la pendiente de la curva de calibración⁵⁸.

Estos dos criterios serán empleados para la estimación de la sensibilidad de los métodos colorimétricos.

⁵⁶ FIGUEIRAS J. Validación de un método espectrofotométrico UV - VIS para la determinación cuantitativa de fenoles totales en la crema VIMANG. Tesis en la opción al Título de Licenciado en Ciencias Farmacéuticas. Instituto de Farmacia y Alimentos. Cuba: Universidad de La Habana. Facultad de Farmacología. Departamento de Lic. en Ciencias Farmacéuticas, 1999. 120p.

⁵⁷ RONALD, E W., RAYMOND, H. M., & SHARON, L. M. Probabilidad y Estadística para Ingenieros. 6 ed. México. Prentice – Hall Hispanoamérica S.A.

⁵⁸ MOLINA, S. Estandarización de métodos de análisis para la determinación de nitratos, nitrito, compuestos fenólicos y aceites y grasas utilizados como indicadores de contaminación en aguas naturales y residuales industriales. Tesis Química. Colombia; Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ciencias, 2010. 227p.

2.7.2.3. Límite de Detección (LOD) y de Cuantificación (LOQ)

2.7.2.3.1. Límite de Detección (LOD)

Es la mínima concentración de analito que puede ser detectada por el equipo sin que se confunda con la señal del blanco o ruido de fondo del equipo.

Es necesario solamente cuando deben tomarse decisiones cualitativas, es decir, si la sustancia está presente o no.

2.7.2.3.2. Límite de Cuantificación (LOQ)

Corresponde a la menor concentración de analito que puede determinarse con precisión y exactitud razonables con las condiciones establecidas y se expresa en unidades de concentración.

Se emplea cuando se realizan determinaciones de sustancias a nivel de trazas.

Para calcular estos parámetros, se pueden utilizar diferentes métodos y se aplican las mismas fórmulas ajustadas. Entre los métodos más comunes se tienen los siguientes:^{59,60,61.}

- **Métodos para determinar el Límite de Detección (LOD) y de Cuantificación (LOQ)**
- **Método 1: Método basado en la relación señal /ruido.**

Este método es uno de los más conocidos y empleados, requiere que el procedimiento de análisis sea instrumental y que proporcione una señal blanco, un ruido de fondo o una línea de base, es decir una señal residual a concentración cero de analito. En general el límite de cuantificación (LOQ) será igual a la concentración de analito que proporcione una señal 10 veces superior, y el límite de detección (LOD) será igual a la concentración de analito que proporcione una señal 3 veces superior a este.

Para la determinación del límite de detección y de cuantificación es necesario calcular primero la señal mínima mediante la ecuación 5:

$$\text{Señal mínima} = S_{bl} + k\sigma_{S_{bl}} \quad \text{Ecuación 5}$$

⁵⁹ GARCÍA, Op cit., p. 91-93

⁶⁰ WALFISH, Steven..Analytical Methods: A Statistical Perspective on the ICH Q2A and Q2B Guidelines for Validation of Analytical Methods. En: BioPharm International. Diciembre, 2006.6p

⁶¹US.FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Guidance for industry: Q2B validation of analytical procedures: methodology. Rockville, MD: Noviembre, 1996. 10p.

Sbl: promedio de la señal del blanco.
σSbl: desviación estándar de la señal del blanco.
K: factor numérico (k=3).

Para la determinación del límite de cuantificación se usa la ecuación 5, donde k es igual a 10.⁶²

Una vez obtenidos los resultados de la Sm se procede a calcular los LOD y LOQ en donde la señal mínima se reemplaza en la ecuación del método $Y=mx + b$

➤ Método 2

Se puede determinar de dos formas:

1. Basado en la curva de calibración

Una curva de calibración específica debe ser estudiada utilizando muestras que contienen un analito en el intervalo de LOD o de LOQ, según sea el caso. La desviación estándar residual de una línea de regresión o la desviación estándar de y-intersecciones de las líneas de regresión puede usarse como la desviación estándar.⁶³

Las ecuaciones utilizadas para determinar el límite de detección (LOD) y el límite de cuantificación (LOQ) son las siguientes:

$$LOD = \frac{3,3\sigma}{m} \text{ Ecuación 6}$$

$$LOQ = \frac{10\sigma}{m} \text{ Ecuación 7}$$

Donde σ corresponde a la desviación estándar residual de la línea de regresión y m corresponde a la pendiente de la curva de calibración.

2. Basado en la desviación estándar del blanco

La medición de la respuesta de fondo analítica se lleva a cabo por el análisis de un número apropiado de muestras de blanco y el cálculo de la desviación estándar de estas respuestas.⁶⁴ Para los métodos espectrofotométricos donde se utiliza un blanco como corrección de la medida se recomienda utilizar éste método.⁶⁵ Las ecuaciones utilizadas para determinar el LOD y LOQ son las 6 y 7, pero en este

⁶² SKOOG, Op. cit., p. 648

⁶³ US Food and Drug Administration, Op. cit., p. 7.

⁶⁴ Ibid, p. 7-9

⁶⁵ GARCÍA, Op cit., p. 92

caso σ corresponde a la desviación estándar de la respuesta del blanco y S corresponde a la pendiente de la curva de calibración

2.7.2.4. Precisión

La precisión es una medida del grado de repetibilidad del método analítico, realizado en condiciones normales y refleja el error aleatorio del método. Se expresa como la **desviación típica o coeficiente de variación** (desviación típica relativa).⁶⁶ El objetivo del estudio de la precisión es conocer la variabilidad del método de ensayo; ésta debida a errores aleatorios inherentes al método. Para evaluar la precisión se debe determinar la repetibilidad y la reproducibilidad del método.⁶⁷

2.7.2.4.1. Repetibilidad

Precisión del método bajo condiciones idénticas: mismo analista, mismo equipo, mismos reactivos, mismo método y cortos espacios de tiempo.⁶⁸

2.7.2.4.2. Reproducibilidad

Precisión en condiciones completamente diferentes de analistas, instrumentación, reactivos, laboratorios y días de análisis.⁶⁹ La reproducibilidad es la cercanía entre los resultados de las mediciones de la misma magnitud por medir, efectuada bajo condiciones de medición diferentes. Las condiciones que cambian pueden ser entre otras: el principio de medición, el método de medición, el observador, el instrumento de medición, el patrón de referencia, el lugar, las condiciones de uso y el tiempo.⁷⁰

➤ Criterios de aceptación de la precisión

- Coeficiente de variación de Horwitz y el parámetro HorRat

Uno de los criterios de aceptabilidad ampliamente usados para la precisión en términos de repetibilidad y reproducibilidad es el método del coeficiente de variación de Horwitz y el parámetro HorRat. Según Horwitz la magnitud de las dispersiones obtenidas en los ensayos analíticos está relacionada con el nivel de concentración del analito⁷¹. El valor de la expresión es la siguiente:

⁶⁶Ibid, p. 86

⁶⁷AGUIRRE, Leticia. Validación de métodos analíticos. Barcelona: Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria, 2001. 331p.

⁶⁸GARCÍA, Op cit., p. 86

⁶⁹Ibid., p. 86

⁷⁰LLAMOSAS, Op cit., p. 456.

⁷¹ VALCARCEL, A, RIOS, A. La calidad en los laboratorios analíticos, España 1992.54p.

$$DSR_H = CV_H = 2 \cdot C^{-0,15} \quad \text{Ecuación 8}$$

Donde C es la concentración expresada en fracción de masa como se indica en la siguiente tabla:

Tabla 3. Relación entre los valores de concentración y su correspondiente fracción de masa⁷².

Concentración	Fracción de masa
100%	1.0
10%	0,1
1%	0,01
0,1%	0,001
0,01% = 100ppm	0,0001
10 ppm	0,00001
1ppm	0,000001
10 ppb	0,00000001
1 ppb	0,000000001

El proceso para realizar la conversión de cualquier concentración a fracción de masa es iniciar cambiando la concentración inicial a porcentaje y dividir finalmente entre 100.

Una vez calculado el valor teórico predicho por Horwitz (%DSR_H), este se compara con el valor de la desviación estándar relativa (%DSR_r) obtenida para cada nivel de concentración empleando el parámetro HorRat_r⁷³:

$$\text{HorRat}_r = \frac{\%DSR_r}{\%DSR_H} \quad \text{Ecuación 9}$$

En la práctica los resultados HorRat aceptables oscilan entre 0,2 y 2; aunque estos no son límites absolutos. Para su interpretación es importante considerar que las desviaciones consistentes hacia el límite inferior (valores < 0,2) pueden indicar promedios no reportados o excelente entrenamiento y experiencia; las desviaciones consistentes hacia el límite superior (valores > 2) pueden indicar no homogeneidad de las muestras, necesidad de optimizar el método o entrenamiento, operaciones bajo el límite de cuantificación o un método no satisfactorio.⁷⁴

⁷² AOAC INTERNACIONAL. Appendix F. Guidelines for Standar Method Performance. En: Guidelines for Dietary Supplementes and Botanicals. 2012, 32p.

⁷³ RIVERA, Carlos. Uso de la ecuación de Horwitz en laboratorios de ensayos NMX-EC-17025. Simposio de metrología 2010.

⁷⁴ Ibid., p.2.

- Análisis de Varianza ANOVA

El análisis de varianza contrasta la hipótesis de igualdad de las Medias para las n variables, y tiene su fundamento en la relación entre la variación explicada por las diferencias entre grupos y la variación individual.

La Hipótesis Nula Ho es:

$$\mu_1 - \mu_2 - \dots - \mu_n = 0$$

La Hipótesis Alternativa H1 es:

$$\mu_1 - \mu_2 - \dots - \mu_n \neq 0$$

El estadístico de contraste está dado por la ecuación 10:

$$F = \frac{MC_E}{MC_I} \text{ Ecuación 10}$$

Donde MC_E y MC_I son las Medias Cuadráticas "entre" e "intra" respectivamente.

El fundamento del estadístico de contraste es:

a) El efecto de las variables en cada grupo es medido por la Media de las concentraciones de cada grupo.

b) Si todos todas las variables tuvieran el mismo efecto, se esperaría que las Medias de los grupos fueran semejantes:

$$\bar{X}_1 = \bar{X}_2 = \dots = \bar{X}_n$$

En cambio, cuanto más diferentes sean los efectos de las variables, más diferentes se espera que sean las Medias.

c) La Media Cuadrática "entre" mide la variación explicada por las diferencias entre las Medias de los grupos más la variación explicada por diferencias individuales:

$$MC_E = \frac{\sum_i^J n(\bar{X}_i - \bar{X})^2}{gl_E}$$

Ecuación 11

Donde

J: Número de grupos

n: Número de datos

gl_E : Grados de libertad

Si las Medias fueran semejantes, la Media Cuadrática "entre" sería igual a 0 (porque la Media de cada grupo sería igual a la Media total). Si las Medias fueran

diferentes, la Media Cuadrática "entre" será mayor cuanto más y mayores sean las diferencias.

d) La variación individual es medida por la Media Cuadrática "intra":

$$MC_I = \frac{\sum_j \sum_i (X_{ij} - \bar{X}_j)^2}{gl_I}$$

Ecuación 12

Donde

gl_I : grados de libertad "intra" = $J(n-1)$.

La Media Cuadrática "intra" mide la variación explicada por diferencias individuales porque solo depende de las diferencias **dentro** de cada grupo. En cambio, las diferencias entre grupos no explican la variación "intra".

e) El estadístico F pone en relación la variación "entre" respecto de la variación "intra":

$$F = \frac{MC_E}{MC_I}$$

Ecuación 13

Cuanto mayor es la variación "entre" en relación a la variación "intra", mayor es el valor de F.

f) Para generalizar a la población se opera con los valores esperados de las Medias Cuadráticas:

$$E(MC_E) = \sigma^2 + \frac{n \sum_j (\mu_j - \mu)^2}{J-1}$$

Ecuación 14

El valor esperado de la Media Cuadrática "entre" es igual a la Varianza explicada por las diferencias individuales más una cantidad cuyo valor depende de las diferencias entre las variables.

$$E(MC_I) = \sigma^2$$

Ecuación 15

El valor esperado de la Media Cuadrática "intra" es igual a la Varianza explicada por diferencias individuales.

g) Si la Hipótesis Nula fuera verdadera, es decir, si NO hubiera diferencias entre las Medias poblacionales, el valor del término de la derecha en la expresión del valor esperado de la Media Cuadrática "entre", que es:

$$\frac{n \sum_j^J (\mu_j - \mu)^2}{J-1}$$

tomaría el valor 0 (porque las diferencias dentro del paréntesis siempre serían 0). En consecuencia, el estadístico F sería una razón de dos estimadores de la misma Varianza y seguiría la distribución F con J-1 y J(n-1) grados de libertad.

h) Si la Hipótesis Nula fuera falsa, es decir, si hubiera diferencias entre las Medias poblacionales, la expresión

$$\frac{n \sum_j^J (\mu_j - \mu)^2}{J-1}$$

tomaría un valor superior a 0. En consecuencia, el estadístico F NO sería una razón de dos estimadores de la misma Varianza y el cociente F NO seguiría la distribución $F_{J-1, J(n-1)}$.

i) En conclusión, si el estadístico F sigue la distribución $F_{J-1, J(n-1)}$ se pensaría que no hay evidencia suficiente por rechazar la Hipótesis Nula. En cambio, si el estadístico F NO sigue la distribución $F_{J-1, J(n-1)}$, se pensaría que es más razonable rechazar la Hipótesis Nula⁷⁵.

2.7.2.5. Efecto Matriz

El efecto matriz consiste en una disminución o aumento de la respuesta instrumental del analito debido a la presencia de otros componentes. En otras palabras, para la misma concentración de analito, el análisis de una muestra real o de una disolución estándar del analito puro no proporciona la misma respuesta instrumental. El efecto matriz provoca un error sistemático proporcional, es decir, dependiente de la concentración de analito en la muestra.

Una posibilidad para evitar el efecto matriz sería construir siempre la recta de calibrado tomando una muestra parecida a la muestra problema pero libre del analito a determinar (un blanco de muestra), y añadirle cantidades conocidas del

⁷⁵BOQUÉ, R, MAROTO, A. El análisis de la varianza (ANOVA). Comparación de múltiples poblaciones. Grupo de Cualimetría y Quimiometría. Universitat Rovira i Virgili. 2011.

analito para formar soluciones patrón. Sin embargo, esta aproximación resulta, en numerosos casos, impracticable, pues el efecto matriz puede variar de una muestra a otra y además, puede que no podamos disponer de una muestra sin el analito en cuestión.⁷⁶

No obstante, la mejor alternativa para soslayar el efecto matriz es utilizar la técnica de las adiciones estándar, que consiste en la adición de cantidades conocidas y crecientes del analito a la propia muestra problema, la lectura de las correspondientes respuestas instrumentales y la construcción de la recta de adiciones estándar. La posterior cuantificación del analito se realiza por extrapolación de la recta de calibrado al punto del eje de abscisas donde la respuesta es cero. El mayor inconveniente de esta técnica es que se necesita construir una recta de adiciones estándar para cada muestra que se quiera analizar, lo cual supone un incremento sustancial en el volumen de trabajo del laboratorio.⁷⁷

✓ **Interferencias en los métodos colorimétricos del cloruro estañoso y del ácido ascórbico**

De acuerdo a lo reportado por el libro Standard Methods edición 22, las interferencias para el método colorimétrico del cloruro estañoso se clasifican en positivas las cuales son causadas por silicio y arseniato, solo si la muestra es calentada y negativas que son causadas por arseniatos, fluoruro, torio, bismuto, sulfuro, tiosulfato, tiocianato o exceso de molibdato. Un color azul se desarrolla debido a la presencia de ión ferroso pero no afecta los resultados si la concentración es menor que 100 mg/L. Iones que interfieren en concentraciones sobre 1000 mg/L son: Al^{3+} , Fe^{3+} , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Ba^{2+} , Sr^{2+} , Li^+ , Na^+ , K^+ , NH_4^+ , Cd^{2+} , Mn^{2+} , Pb^{2+} , Hg^+ , Hg^{2+} , Sn^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} , Ag^+ , U^{4+} , Zr^{4+} , AsO_3^{3-} , Br^- , CO_3^{2-} , ClO_4^- , CN^- , IO_3^- , SiO_4^{4-} , NO_3^- , NO_2^- , SO_4^{2-} , SO_3^{2-} , pirofosfato, molibdato, tetraborato, selenato, benzoato, citrato, oxalato, lactato, tartrato, formiato y salicilato. El Cl^- a 75 mg/L interfiere si en el procedimiento se usa HNO_3 .⁷⁸

Para el caso del método colorimétrico del ácido ascórbico, una interferencia son los arseniatos, los cuales reaccionan con el reactivo de molibdato para producir un color azul similar al formado con el fósforo. El cromo hexavalente y el ión NO_2^- interfieren a concentraciones de 1 mg/L a 10 mg/L. Sulfuros (Na_2S) y silicatos, no interfieren a concentraciones de 1,0 y 10 mg/L.⁷⁹

⁷⁶ Ibid., p. 4.

⁷⁷ MILLER Y MILLER, Op. cit., p 119.

⁷⁸ AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION, WATER POLLUTION CONTROL FEDERATION. Op. cit., p. 4-153

⁷⁹ Ibid., p 4-155.

➤ Evaluación del efecto matriz

Se ha encontrado que ninguna técnica estadística resulta ser lo suficientemente eficiente en la evaluación del efecto matriz en las diferentes técnicas de análisis instrumental. Por lo tanto es necesario realizar la evaluación mediante diferentes técnicas estadísticas, como porcentaje de efecto matriz, prueba pareada y métodos de regresión⁸⁰.

➤ Expresión del efecto matriz.

a) Porcentaje de efecto matriz: Corresponde al porcentaje calculado con base en la respuesta de los analitos en solvente y la respuesta de los analitos en la matriz de referencia. Este cálculo viene dado por la ecuación 16:⁸¹

$$\% \text{ Efecto Matriz} = \left(\frac{\text{Respuesta en matriz}}{\text{Respuesta en solvente}} \right) \times 100\% \quad \text{Ecuación 16}$$

b) Prueba t- test pareado: Esta prueba, compara la igualdad de medias en las respuestas del analito en los diferentes niveles de concentración para las soluciones en solvente y en matriz. El procedimiento general para la realización de esta prueba es:

- I. Se promedian los duplicados.
 - II. Se restan los correspondientes promedios (matriz-solvente).
 - III. Se halla el promedio de las diferencias (d).
 - IV. Se halla la desviación estándar de las diferencias (SD).
 - V. Se compara con t de las tablas para un 95% de nivel de confianza, dos colas y se concluye.
- Si el valor calculado de t es menor que el tabulado, no se rechaza la hipótesis nula, es decir el efecto matriz no es significativo⁸².

El cálculo se realiza aplicando la siguiente ecuación:

$$T \text{ calculado} = \frac{dx\sqrt{N}}{SD} \quad \text{Ecuación 17}$$

c) Estimación del efecto matriz a partir regresión lineal: Otro método para determinar la presencia o ausencia del efecto matriz es el empleo de la regresión lineal. Para ello se determina la respuesta en el método a diferentes niveles de concentración tanto en solvente como en extracto de matriz, posteriormente se

⁸⁰ AHUMADA, Diego. Reducción del efecto matriz en el análisis de residuos de plaguicidas mediante cromatografía de gases. Tesis de maestría en ciencias químicas. Bogotá D.C.: Universidad Nacional de Colombia. Facultad de ciencias. Departamento de química. 2010. 293p.

⁸¹ Ibid., p. 42

⁸² Ibid., p. 42

hace una gráfica de la respuesta obtenida en solvente contra la respuesta obtenida en matriz. En el caso en el que no exista presencia de efecto matriz la pendiente de esta recta debe ser igual a 1 y el intercepto igual a cero, por lo tanto, se hace necesario evaluar el cumplimiento de esto mediante el cálculo de los límites de confianza de estos estimadores, lo cual dependerá del tipo de regresión empleada (ponderada o no ponderada). Esta técnica para evaluar la presencia del efecto matriz tiene como principales desventajas (i) que se debe tener una buena regresión, (ii) las concentraciones que se evalúan deben ser equidistantes, (iii) el número mínimo de puntos en la regresión debería corresponder a 10 y (iv) se asume que no hay errores en el eje X⁸³.

2.7.2.6. Exactitud

La exactitud de un método analítico es “la capacidad para obtener resultados próximos al verdadero”. Es el grado de concordancia entre el resultado de ensayo y el valor de referencia.

La exactitud se expresa en términos de errores absolutos y relativos; El error absoluto (Ea) de una medida es la diferencia entre el valor verdadero y un conjunto de valores que se han medido, se determina mediante la ecuación 18:

$$Ea = x_i - x_t \quad \text{Ecuación 18}$$

El error relativo es el cociente entre el error absoluto de la medida y el valor verdadero este suele expresarse en términos de porcentaje y se calcula mediante la ecuación 19:

$$\text{Error relativo: } \%E = \frac{x_i - x_t}{x_t} \times 100 = \frac{\text{Valor medido} - \text{Valor esperado}}{\text{Valor esperado}} \times 100 \quad \text{Ecuación 19}$$

Cuando se aplica a un método de ensayo, el término “exactitud” se refiere a una combinación de veracidad y precisión.

La veracidad determina el grado de coincidencia existente entre el valor medio obtenido de una serie de resultados y un valor de referencia aceptado. La veracidad puede ser determinada por sesgo o recuperación.

Sesgo (s): La diferencia entre la expectativa relativa a los resultados de un ensayo o una medición y el valor verdadero. En la práctica el valor convencional de cantidad puede sustituir el valor verdadero.

Para determinar el sesgo puede utilizarse material de referencia, material fortificado, material control, material ensayo de aptitud: Para este fin, se debe medir un analito de concentración conocido y se determina la diferencia en valor

⁸³ Ibid., p. 43.

absoluto entre el valor conocido y la media del valor obtenido. Una diferencia sistemática importante en relación al valor de referencia aceptado se refleja en un mayor valor del sesgo, cuanto más pequeño es el sesgo, mayor veracidad indica el método.

Para evaluar el sesgo se debe utilizar la Prueba t, en la cual $t_{calculada} < t_{tabulada}$

$$t_{calc} = \frac{[X_a - X]}{S \times \sqrt{n}} \quad \text{Ecuación 20}$$

Donde:

t_{calc} = t observado o calculado

X_a = Valor esperado o valor certificado en concentración

X = Promedio de valores leídos u observados en concentración

S = Desviación estándar

n = Numero de lecturas o valores observados.

Recuperación (R): Es la fracción de la sustancia agregada a la muestra (muestra fortificada) antes del análisis, al ser analizadas muestras fortificadas y sin fortificar.

La recuperación permite ver el rendimiento de un método analítico en cuanto al proceso de extracción y la cantidad del analito existente en la muestra original. Por lo cual, la recuperación esta intrínsecamente relacionada a las características de la matriz de la muestra⁸⁴.

Según la literatura consultada, existen diferentes métodos para evaluar la exactitud:

a) Comparación con un método oficial, validado o estandarizado

La muestra se analiza utilizando el método a validar y un segundo método bien caracterizado, el cual debe tener una exactitud bien definida y establecida. Se analizan 6 muestras por duplicado a la concentración normal de trabajo por ambos métodos y se lleva a cabo un análisis de varianza ANOVA del porcentaje de recuperación o del error relativo en porcentaje para determinar si existen o no diferencias significativas entre la exactitud de los métodos comparados.⁸⁵

⁸⁴ DUFFAU, Boris; ROJAS, Fabiola. Validación de métodos y determinación de la incertidumbre de la medición. En: Guía Técnica 1. Diciembre, 2010. 70p.

⁸⁵ CÁRDENAS, Dayana. Validación de un método UV VIS para la cuantificación de fenoles totales en jarabe Vimang. Trabajo de grado Licenciatura en Ciencias Farmacéuticas. Instituto de Farmacia y Alimentos. 2006. 47 p.

b) Método de adición de patrón

Se puede realizar con placebo enriquecido con un patrón o con muestra enriquecida con el patrón, de no contarse con el placebo. La ICH (International Conference Harmonization) recomienda preparar muestras por triplicado para cada nivel de concentración. En el caso del trabajo con muestras enriquecidas, si se desea calcular el porcentaje de recuperación, debe conocerse el contenido del analito en la muestra antes de la adición del patrón⁸⁶.

Los criterios de aceptación se reportan en la tabla 4.

Tabla 4. Criterios de aceptación para el método de adición del patrón⁸⁷.

Ensayo	Criterio de aceptación
Muestra enriquecida	Porcentaje (%) de recuperación esperado: 80 – 120%

Fuente: AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION, WATER POLLUTION CONTROL FEDERATION. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater.

Para determinar el porcentaje de recuperación se utiliza la ecuación 21:

$$\text{Recuperación} = \%R = \frac{C_{MA} - \bar{C}_M}{C_A} \times 100, \text{ donde} \quad \text{Ecuación 21}$$

C_M = concentración promedio analizada en la muestra no adicionada,
 C_{MA} = concentración analizada en la muestra adicionada, y
 C_A = concentración conocida adicionada a la muestra.

2.7.2.7. Incertidumbre de los resultados

Es un parámetro de identificación central e imprescindible para preparar una acreditación según la Norma ISO 17025. Incluye los errores sistemáticos y aleatorios.

La incertidumbre de una medición es el parámetro asociado al resultado, es decir, caracteriza la dispersión de los valores que razonablemente pueden ser atribuidos al mesurando.

⁸⁶ibid., p. 16.

⁸⁷ AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION, WATER POLLUTION CONTROL FEDERATION. Op. cit., p. 4-153

En este sentido, es importante que para un método validado o verificado por el laboratorio, se realice la determinación de las diferentes fuentes o componentes de la incertidumbre de la medición presentes.

La incertidumbre de la medición comprende, en general, muchos componentes. Algunos de estos pueden ser evaluados por tipo. Para este fin el laboratorio deberá realizar una evaluación de las incertidumbres tipo A y B que están presentes en el método:

- **Evaluación de incertidumbre tipo A:** Evaluación de un componente por un análisis estadístico de los valores de mediciones obtenidos en condiciones de medición definidas. Ejemplo: realizar varias mediciones en condiciones de repetibilidad.

- **Evaluación de incertidumbre tipo B:** Evaluación de un componente de incertidumbre de la medición realizada por otros medios distinto a los del tipo A. Ejemplos: La evaluación basada en la información, datos obtenidos a partir de un certificado de calibración, datos obtenidos a partir de los límites, etc⁸⁸.

En general, la incertidumbre está dada por los errores sistemáticos y aleatorios presentes en el ensayo analítico.

La determinación de la incertidumbre incluye generalmente 3 pasos:

Paso 1: Determinación de las fuentes.

Paso 2: Expresar los componentes en una incertidumbre estándar y combinar las diferentes incertidumbres:

a) A partir de la masa de KH_2PO_4

Se halla con los datos del certificado de calibración de la balanza la incertidumbre original de la masa de KH_2PO_4 pesada para la preparación de la solución patrón, mediante la ecuación 28⁸⁹:

$$U=U_0+(b*mi) \text{ Ecuación 22}$$

Donde

U : Incertidumbre original

U_0 = Resolución entregada por el fabricante

⁸⁸ DUFFAU, Op. cit., p. 50-52

⁸⁹CENTRO NACIONAL DE METROLOGÍA y ENTIDAD MEXICANA DE ACREDITACIÓN. Guía técnica sobre trazabilidad e incertidumbre en las mediciones analíticas que emplean la técnica de espectrofotometría de ultravioleta-visible. México, Abril, 2008. 68p.

b = Valor entregado por el fabricante

mwi = Masa de KH_2PO_4 pesada

Se continúa con el cálculo de la incertidumbre estándar aplicando la ecuación 23,

$$u_{xi} = \frac{U}{k} \text{ Ecuación 23}$$

Donde

u_{xi} : Incertidumbre estándar de la balanza.

U : Incertidumbre original reportada en el certificado.

k : Factor de cobertura.

b) Incertidumbre por resolución de la balanza:

Para calcular la incertidumbre de la resolución de la balanza se aplican las ecuaciones 22 y 23, teniendo en cuenta que en este caso la masa de KH_2PO_4 vale 0.

Para el cálculo de la incertidumbre combinada UC_{xi} (ecuación 24), la expresión u_{xia} hará referencia a la incertidumbre estándar de la masa de KH_2PO_4 , mientras que u_{xib} a la incertidumbre estándar de la resolución de la balanza.

$$UC_{xi} = \sqrt{(u_{xia})^2 + (u_{xib})^2} \text{ Ecuación 24}$$

La incertidumbre estándar relativa UR se refiere a la incertidumbre combinada dividida entre el valor estimado (X_i) que en este caso es la masa de KH_2PO_4 pesada inicialmente⁹⁰.

$$UR = \frac{UC_{xi}}{X_i} \text{ Ecuación 25}$$

UR: Incertidumbre estándar relativa

UC_{xi}: incertidumbre combinada

X_i: valor estimado

c) Incertidumbre debida a la masa molar de KH_2PO_4

Para la determinación de la incertidumbre estándar de la masa molar del KH_2PO_4 , primero se halla la incertidumbre estándar de cada elemento, luego se procede a determinar la incertidumbre combinada del KH_2PO_4 . Para estos cálculos se tuvo en cuenta que esta es una distribución rectangular con la siguiente ecuación.

$$U_{xi} = \frac{a}{\sqrt{3}} \text{ Ecuación 26}$$

⁹⁰Ibid., p. 50.

Donde:

a : Incertidumbre original

$$U_{CKH_2PO_4} = \sqrt{(u_K)^2 + (u_{H_2})^2 + (u_P)^2 + (u_{O_4})^2} \text{ Ecuación 27}$$

Donde:

$U_{CKH_2PO_4}$: Incertidumbre combinada de KH_2PO_4

$u_K, u_{H_2}, u_P, u_{O_4}$: Incertidumbre estándar de K, H_2 , P y O_4 respectivamente.

La incertidumbre estándar relativa se refiere a la incertidumbre combinada (ecuación 27) dividida entre el valor estimado (**X_i**) que en este caso es la masa molecular de KH_2PO_4 .

d) Preparación de las soluciones patrón

Para la estimación de la incertidumbre de la preparación de las soluciones patrón se debe tener en cuenta las diluciones que se hayan realizado.

En el proceso de una dilución se identifican dos fuentes de incertidumbre, el V_2 de aforo y el V_1 de la alícuota de la muestra. La estimación de incertidumbre relativa del factor de dilución, se realiza combinando las incertidumbres de ambas mediciones: volumen de la alícuota de muestra y volumen de aforo, de forma relativa y cuadrática, de acuerdo a la ecuación 28

$$\frac{U_{fd1}}{fd1} = \sqrt{\left(\frac{u_{V1}}{V1}\right)^2 + \left(\frac{u_{V2}}{V2}\right)^2} \text{ Ecuación 28}$$

- **Estimación de las fuentes de incertidumbre de la medición de volumen de la alícuota V_1 y aforo V_2 .**

La estimación de incertidumbre de la medición de volumen V_n en cualquier material volumétrico, identifica tres principales fuentes de incertidumbre que afectan esta medición:

1. El efecto de la variabilidad o repetibilidad del volumen medido por el analista. Se calcula con la siguiente ecuación:

$$U_v = \frac{S}{\sqrt{n}} \text{ Ecuación 29}$$

Donde

U_v : Incertidumbre estándar de la de la variabilidad o repetibilidad del volumen medido.

S : Desviación estándar de las pesadas del volumen transferido.

n : Número de mediciones.

2. El efecto de la variación de la temperatura con respecto a la temperatura de calibración del material volumétrico, que se estima a partir del factor de expansión del líquido.

$$UT = \frac{(T-T20)*\alpha*V}{\sqrt{3}} \text{ Ecuación 30}$$

Donde

UT: Incertidumbre estándar de la variación de la temperatura.

T: Temperatura del agua °C al momento de la medición

T20: 20 °C, temperatura de referencia

α : Coeficiente de expansión del volumen del agua (0,00021)

V: Volumen de la pipeta aforada (20mL)

3. La tolerancia del material volumétrico.

$$U_{tl} = \frac{Tol}{\sqrt{3}} \text{ Ecuación 31}$$

U_{tl} : Incertidumbre estándar de la tolerancia del material volumétrico

Tol: tolerancia del material volumétrico, para este caso (balón aforado de 1000mL)= 0,5mL

La estimación de la incertidumbre relativa del V_n , se determina de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\frac{U_{vn}}{V_n} = \sqrt{\left(\frac{UR}{m}\right)^2 + \left(\frac{UT}{V}\right)^2 + \left(\frac{U_{tl}}{V}\right)^2} \text{ Ecuación 32}$$

Donde

U_{vn} : Incertidumbre relativa del V_n

V_n : Volumen nominal

V: Volumen 1

UR: Incertidumbre relativa del efecto de la variabilidad o repetibilidad del volumen medido

UT: Incertidumbre relativa efecto de la variación de la temperatura con respecto a la temperatura de calibración del material volumétrico, que se estima a partir del factor de expansión del líquido.

U_{tl} : Incertidumbre relativa de la tolerancia del material volumétrico⁹¹.

⁹¹Ibid., p. 52

e) Incertidumbre de la pureza del reactivo. (Ur)

En este caso a partir del certificado del reactivo KH_2PO_4 emitido por el fabricante (MERCK).

f) Concentración de Fósforo total medido en el instrumento a través de la curva de calibración

Se tienen en cuenta dos fuentes de incertidumbre: I. Incertidumbre de debida a la curva de calibración y II. Incertidumbre debida a la lectura del blanco.

I. Incertidumbre debida a la curva de calibración

Para calcular la incertidumbre debida a la curva de calibración se aplica la ecuación 36:

$$u_{Y(PT)} = \frac{S}{b_1} \sqrt{\left(\frac{1}{p}\right) + \left(\frac{1}{n}\right) + ((Y_{(PT)} - Y_{(MRC)})^2 / S_{XX})} \quad \text{Ecuación 33}$$

Donde

$u_{Y(PT)}$	Incertidumbre del mesurando obtenida por el instrumento calibrado.
S	Desviación estándar residual del cálculo de regresión lineal
b_1	La pendiente calculada
p	El número de réplicas de la solución en estudio (10)
n	numero puntos en la curva de calibración multiplicado por el número de réplicas de cada punto (total de datos) (i*j) (8*14= 112)
$Y_{(PT)}$	La concentración en estudio. (1ppm)
Y_{MRC}	El promedio de las concentraciones calculadas. (0,6)
S_{XX}	Suma de cuadrados de los residuales de las concentraciones obtenidas (1,02)

II. Incertidumbre debida a la lectura del blanco

Para calcular la incertidumbre debida a la lectura del blanco se aplica la ecuación 37.

$$U_{blanco} = \frac{S_b}{\sqrt{n}} \quad \text{Ecuación 34}$$

U_{blanco} : Incertidumbre debida a la lectura del blanco

S_b : Desviación estándar de las lecturas en concentración de los blancos

n: Número de lecturas del blanco

Para calcular la incertidumbre relativa combinada se aplica la ecuación 35:

$$URC = \sqrt{(u_{Y(PT)})^2 + (U_{blanco})^2} \quad \text{Ecuación 35}$$

Donde

URC: Incertidumbre combinada relativa de la concentración de Fósforo total medido en el instrumento a través de la curva de calibración.

$u_{Y(PT)}$: Incertidumbre del mesurando obtenida por el instrumento calibrado

Ublanco: Incertidumbre debida a la lectura del blanco⁹²

g. Incertidumbre de la precisión de las muestras

En este punto se debe hacer una estimación de las incertidumbres de los factores de dilución, en caso de que se hubieran realizado diluciones, teniendo en cuenta las ecuaciones 28, 29, 30, 31 y 32. Luego se procede a estimar las incertidumbres asociadas con la precisión, así:

1. Incertidumbre estándar asociada con la repetibilidad

Para calcular la incertidumbre asociada con la repetibilidad se aplica la ecuación 36:

$$U_{repetibilidad} = \frac{Sm}{\sqrt{n}} \text{ Ecuación 36}$$

Donde

Urepetibilidad: Incertidumbre estándar de la repetibilidad

Sm: desviación estándar de las lecturas en concentración.

n: Número de repeticiones

2. Incertidumbre estándar asociada con la reproducibilidad

Para calcular la incertidumbre asociada con la reproducibilidad se aplica la ecuación 37:

$$U_{reproducibilidad} = \frac{Sm}{\sqrt{n}} \text{ Ecuación 37}$$

Donde

Ureproducibilidad: Incertidumbre estándar de la reproducibilidad

Sm: desviación estándar de las lecturas en concentración.

n: Número de repeticiones.

Para calcular la incertidumbre combinada de la precisión se aplica la ecuación 38:

$$U_{prec} = \sqrt{(U_{repetibilidad})^2 + (U_{reproducibilidad})^2} \text{ Ecuación 38}$$

Donde

Uprec: Incertidumbre combinada de la precisión

Urepetibilidad: Incertidumbre estándar de la repetibilidad

⁹²Ibid., p. 53.

Ureproducibilidad: Incertidumbre estándar de la reproducibilidad
Para calcular la incertidumbre relativa de la precisión se divide la incertidumbre combinada de la precisión entre el valor estimado Xi:

$$UR = \frac{U_{prec}}{xi} \text{ Ecuación 39}$$

Donde

U_{prec}: Incertidumbre combinada de la precisión

Xi: Valor estimado

Paso 3: Determinación de la incertidumbre expandida

Es decir, multiplicar la incertidumbre combinada por un factor de cobertura de $k = 2$, a fin de entregar un 95% de confianza, y así establecer el intervalo entorno al resultado de la medición en el cual se puede esperar que se incluya la mayor fracción de la distribución de los valores que se pueden atribuir razonablemente al mesurando.⁹³

INCERTIDUMBRE ESTÁNDAR COMBINADA EN EL ANÁLISIS DE FÓSFORO TOTAL

Se realiza sacando la raíz cuadrada de la sumatoria de las incertidumbres relativas elevadas al cuadrado, de acuerdo a la ecuación 40:

$$UC = \sqrt{(UR1)^2 + (UR2)^2 + (UR3)^2 + (UR4)^2 + (UR5)^2} \text{ Ecuación 40}$$

Donde

UR1: Incertidumbre relativa de la preparación de la solución patrón (50ppm de Fósforo)

UR2: Incertidumbre relativa debida a la preparación de la Solución intermedia (10ppm de fósforo)

UR3: Incertidumbre relativa debida a la concentración de la Solución de 1ppm de fósforo

UR4: Incertidumbre relativa de la concentración de Fósforo total medido en el instrumento a través de la curva de calibración

UR5: Incertidumbre relativa de la precisión de las muestras

⁹³ DUFFAU, Op. cit., p.49-52

- **EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS**

Incertidumbre Estándar Combinada:

$$[P_T]_{\text{muestra}} = [P_T]_{\text{muestra}} \pm (UC * [P_T]_{\text{muestra}}) \quad \text{Ecuación 41}$$

Considerando un nivel de confianza del 95% y un factor de cobertura de $k = 2$ se tiene:

$$U_{\text{exp}} = UC * 2 \quad \text{Ecuación 42}$$

Donde, U_{exp} = Incertidumbre expandida

Incertidumbre expandida

$$[P_T]_{\text{muestra}} = [P_T]_{\text{muestra}} \pm (UC * [P_T]_{\text{muestra}} * 2) \quad \text{Ecuación 43}$$

2.7.2.8. Control de Calidad Interno. Elaboración de una carta de control

El control de calidad interno es el conjunto de procedimientos llevados a cabo por el personal del laboratorio para controlar en forma continua la operación y los resultados de las mediciones a fin de decidir si los resultados son suficientemente confiables para ser emitidos.

El objetivo primordial de un programa de control interno es el de asegurar que los resultados que se obtengan en el laboratorio se enmarquen dentro de los límites aceptables de desviación a partir de los valores verdaderos. Usando la media y la desviación estándar, el laboratorio puede establecer límites de decisión. Estos límites son utilizados para definir qué resultado del control es considerado aceptable. Los límites de decisión son establecidos a $\pm 1s$, $2s$ y $3s$ de la media.

Se somete rutinariamente la muestra control al análisis completo en condiciones de reproducibilidad y luego se evalúan estadísticamente los resultados obtenidos.

Cuando un proceso analítico está en control, los datos de las cartas de control formarán una distribución Gaussiana, donde aproximadamente el 99.7% de los resultados caerán dentro de los límites de $\pm 3s$. Los resultados de cartas de control que están fuera de los límites de $3s$ son generalmente considerados fuera de control, y el ensayo debería ser rechazado. Los resultados de cartas de control mayores a $2s$, pero dentro del límite $3s$ no necesariamente indican que el ensayo deba ser rechazado, ya que aproximadamente 4% de los resultados válidos caerán entre $2s$ y $3s$.⁹⁴

⁹⁴PAEZ, Lilian. Validación secundaria del método de filtración por membrana para la detección de coliformes totales *Escherichia coli* en muestras de agua para consumo humano en el Laboratorio de Salud Pública del Huila. Trabajo de grado Microbióloga Industrial. Bogotá D.C.: Universidad Pontificia Javeriana. Facultad de Ciencias. Carrera de Microbiología Industrial. 2008, 134p.

2.7.2.9. Matriz AMEF en la aplicación de procedimientos analíticos

AMEF ó Análisis de Modo y Efecto de Falla, es una herramienta para la mejora, utilizada para detectar por anticipado los posibles modos de falla, con el fin de establecer los controles adecuados que eviten la ocurrencia de defectos. Los objetivos que se desean alcanzar cuando se desarrolla un AMEF son: identificar los modos de falla potenciales, sus posibles causas y el efecto, determinar las consecuencias de las fallas en el desempeño del sistema e identificar las acciones que pudieran eliminar o reducir la posibilidad de que ocurra el modo de falla. Cada vez que haya alguna modificación en el proceso se debe actualizar el AMEF.

La elaboración de una matriz AMEF se puede resumir en 11 pasos:

- i) Proceso:** Describe de manera breve y concreta el proceso que desea analizar
- ii) Modo de falla Potencial:** Es la manera en que podría fallar el proceso para cumplir con los requerimientos previstos.
- iii) Causas de falla potencial:** Situaciones que podrían dar origen al modo de falla, de modo que las acciones correctivas puedan ser orientadas hacia las causas pertinentes.
- iv) Grado de ocurrencia:** Se estima la frecuencia de la causa de falla potencial, utilizando una escala de 1 a 10, donde “1” indica remota probabilidad de ocurrencia y “10” muy alta probabilidad de ocurrencia.
- v) Efecto de falla potencial:** Se describen los efectos del modo de falla en términos de lo que el usuario pueda experimentar.
- vi) Grado de severidad:** Se estima la gravedad del efecto de falla potencial en el usuario final, utilizando una escala de 1 a 10, donde “1” indica una consecuencia sin efecto y “10” una consecuencia muy grave.
- vii) Controles:** Describe los controles actuales que están dirigidos a prevenir o detectar el modo de falla potencial.
- viii) Detección:** Se estima la probabilidad de que los controles del proceso detecten el modo de falla potencial antes de terminar el proceso, utilizando una escala de 1 a 10, “1” indica alta probabilidad de que la falla se pueda detectar y “10” indica que es improbable de ser detectada.
- ix) Número de Probabilidad de Riesgo, NPR:** Es un valor que establece una *jerarquización* de los problemas a través de la multiplicación del grado de ocurrencia, severidad y detección, éste provee la prioridad con la que debe de atacarse cada modo de falla. Toma valores de 1 a 1000, para los NPR más altos se deben emprender acciones efectivas con el fin de reducir el riesgo de falla.
- x) Acciones recomendadas:** Es una descripción de las acciones correctivas o preventivas encaminadas a eliminar ó disminuir la ocurrencia de la causa de falla potencial, reducir la severidad del modo de falla y/o incrementar la probabilidad de detección.

xi) Responsable: Se indica el área o proceso y persona responsable de ejecutar las acciones recomendadas.⁹⁵

2.8. ANTECEDENTES

Varios estudios se han llevado a cabo para determinar las condiciones adecuadas de preservación y almacenamiento de las muestras, así como también las que permitan definir el pretratamiento de las mismas, para la determinación de fósforo total en aguas y lixiviados.

En el artículo titulado *Procedures for the storage and digestion of natural waters for the determination of filterable reactive phosphorus, total filterable phosphorus and total phosphorus*, publicado en 1998, W. Mahery colaboradores hablaron respecto a los procedimientos alternativos de almacenamiento y de digestión de muestras de agua para la determinación de fósforo reactivo filtrable, fósforo total filtrable y fósforo total. Para el análisis de fósforo total en muestras de lago, Lambert et al, encontraron que el almacenamiento más adecuado se hacía cuando las muestras sin filtrar se almacenaban en recipientes de polietileno de baja densidad y a -10°C ; las concentraciones de TP no se vieron afectadas por encima de los 150 días.⁹⁶

En *Determination of total phosphorus and nitrogen in turbid waters by oxidation with alkaline potassium peroxodisulfate and low pressure microwave digestion, autoclave heating or the use of closed vessels in a hot water bath: comparison with Kjeldahl digestion*, publicado en 2002, W. Maher y colaboradores compararon la eficiencia del procedimiento de digestión con persulfato de potasio usando tres tipos diferentes de calentamiento: microondas a bajas presiones, autoclave o calentamiento en baño de agua caliente, con la digestión Kjeldahl con ácido sulfúrico-sulfato de potasio, para la determinación de nitrógeno y fósforo total en aguas de lago y río. La determinación de fósforo como ortofosfato, se realizó mediante la técnica colorimétrica del ácido ascórbico, midiendo la absorbancia a 880nm. Las condiciones a las cuales la recuperación de fósforo fueron mejores (92-100%), se dieron con el procedimiento de digestión en microondas manteniendo el calentamiento a 95°C por 30-40min. Influyó también el pH; en condiciones ácidas, se produce la hidrólisis de algunos compuestos orgánicos fosforados y polifosfatos.⁹⁷

⁹⁵CUELLAR, Oscar Andrés. Validación, determinación de la trazabilidad y estimación de la incertidumbre del método del ácido ascórbico para la determinación de fósforo total y disponible total en el Laboratorio de Química Ambiental de la Universidad Tecnológica de Pereira. Trabajo de grado. Químico Industrial. Pereira: Universidad Tecnológica de Pereira. Facultad de Tecnología. Escuela de Química, 2012. 82p.

⁹⁶ MAHER, W. Procedures for the storage and digestion of natural waters for the determination of filterable reactive phosphorus, total filterable phosphorus and total phosphorus, En: *Analytica Chimica Acta*. Abril, 1998. vol. 375, no. p. 5-47.

⁹⁷ MAHER, W. Determination of total phosphorus and nitrogen in turbid waters by oxidation with alkaline potassium peroxodisulfate and low pressure microwave digestion, autoclave heating or the use of closed

En el 2004, Meifang Zhou y David M. Struve en su trabajo titulado *The effects of post-persulfate-digestion procedures on total phosphorus analysis in water*, investigaron sobre los efectos que tienen los diferentes procedimientos de tratamiento post-digestión, tales como la neutralización y la reacidificación y los procesos de agitación/sedimentación, en el análisis de fósforo total en muestras de agua. El método colorimétrico empleado para la determinación de fósforo total fue el del ácido ascórbico y la digestión se realizó utilizando H₂SO₄ 10.8N y persulfato de amonio al 40%. Así estandarizaron un procedimiento de tratamiento de digestión y post-digestión para el análisis de fósforo total en muestras de agua, en el cual después de tratar las muestras con una solución ácida de persulfato, se sometieron a digestión en autoclave a 125°C y 14 kg/cm² de presión durante 30min.⁹⁸

En el artículo *Rate of phosphoantimonylmolybdenum blue complex formation in acidic persulfate digested sample matrix for total dissolved phosphorus determination: Importance of post-digestion pH adjustment*, publicado en el 2008, Xiao-Lan Huang y colaboradores, realizaron un estudio en donde se demostró que los productos intermedios que resultan del procedimiento de digestión ácida con persulfato, pueden afectar la formación y el desarrollo del color del complejo que es analizado espectrofotométricamente para la determinación de fósforo total disuelto en aguas naturales y residuales. Sin embargo, ellos propusieron que este efecto puede remediarse mediante el ajuste del pH de las muestras ya digeridas, cercano a la neutralidad, con el fin de descomponer dichos productos intermedios.⁹⁹

En un trabajo publicado en el 2013 y titulado *Evaluación analítica para la determinación de fósforo total en aguas por el método del ácido ascórbico*, C. Severiche y colaboradores confirmaron la aplicación correcta del método para la determinación de fosforo total en aguas empleando el método colorimétrico del ácido ascórbico. Para la toma, almacenamiento y preservación de las muestras se usaron envases de plástico (polietileno o polipropileno) o de vidrio, se preservaron con ácido sulfúrico concentrado hasta pH < 2 y almacenadas luego a temperatura ≤ 6°C por un período máximo de 28 días.¹⁰⁰

vessels in a hot water bath: comparison with Kjeldahl digestion, En: *Analytica Chimica Acta*. Abril, 2002.vol. 463, no. p.283-293.

⁹⁸ MEIFANG, Zhou. The effects of post-persulfate-digestion procedures on total phosphorus analysis in water. En: *Water Research*. Junio, 2004. vol. 38, no. p. 3893–3898

⁹⁹ HUANG, Xiao-Lan, Rate of phosphoantimonylmolybdenum blue complex formation in acidic persulfate digested sample matrix for total dissolved phosphorus determination: Importance of post-digestion pH adjustment. En: *Talanta*. Julio, 2008. vol. 77, no. p. 340-345.

¹⁰⁰ SEREVICHE, Carlos. Evaluación analítica para la determinación de fósforo total en aguas por el método del ácido ascórbico. En: *COLCIENCIAS*. Septiembre, 2003.vol. 7, no. 17. p. 37-41.

3. METODOLOGÍA

3.1 Consideraciones Generales

El presente trabajo de grado se enmarca dentro de una investigación aplicada descriptiva, ya que busca la utilización de los conocimientos adquiridos para el mejoramiento de sistemas de calidad y de validación de métodos analíticos con el fin de optimizar los servicios que ofrece el Laboratorio de Análisis Químico y Aguas; a la vez que se adquieren otros, después de implementar y sistematizar la práctica basada en la investigación.

La validación de los métodos analíticos para la determinación de fósforo total en aguas y lixiviados se llevó a cabo tomando como referencia el Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater.- American Public Health Association, American Water Works Association y Water Pollution Control Federation.- 22 th, edition y la guía NTC-ISO/IEC 17025:2005“Requisitos Generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración”.

3.2 FASES DE LA INVESTIGACIÓN

Se procedió a realizar la validación de los métodos analíticos usados en el laboratorio para el análisis de fósforo total en aguas crudas, aguas residuales y lixiviados con el fin de asegurar la calidad de los resultados; para lo cual se realizó la evaluación de todo el sistema de calidad del Laboratorio con respecto a la NTC-ISO/IEC 17025:2005 y la metodología se estructuró en 2 fases en las que se desarrollaron actividades que contribuyeron al logro de los objetivos planteados. A continuación se describen detalladamente.

3.2.1 Fase 1. Diagnóstico de la situación actual del laboratorio con respecto al sistema de calidad.

Para hacer el diagnóstico de la situación actual en la que se encuentra el Laboratorio de Análisis Químico y Aguas, se planificó y ejecutó una auditoría interna dando cumplimiento a lo establecido en el numeral 4.14. Auditorías internas, incluido en la NTC ISO/IEC 17025:2005. Esta auditoría permitió la evaluación de los componentes técnicos y de gestión con respecto al parámetro de fósforo total, que influyen significativamente en la calidad del resultado analítico.

Para que la auditoría interna tuviera validez, fue un requisito indispensable que quienes la realizaran cuenten con la certificación de formación de auditores de sistemas de gestión de calidad para laboratorios - NTC-ISO/IEC

17025:2005. Teniendo en cuenta lo anterior, el Equipo Auditor ISO/IEC 17025, estuvo conformado por: Yanha Doracelly Ortiz, estudiante de Química, Auditor interno ISO/IEC 17025; Paula Andrea Páez, estudiante de Química, Auditor interno ISO/IEC 17025 y Diana María Gómez Narváez, Tecnólogo en Agua y Saneamiento. Profesional en Química. Especialista en Gestión Ambiental. Experto Técnico.

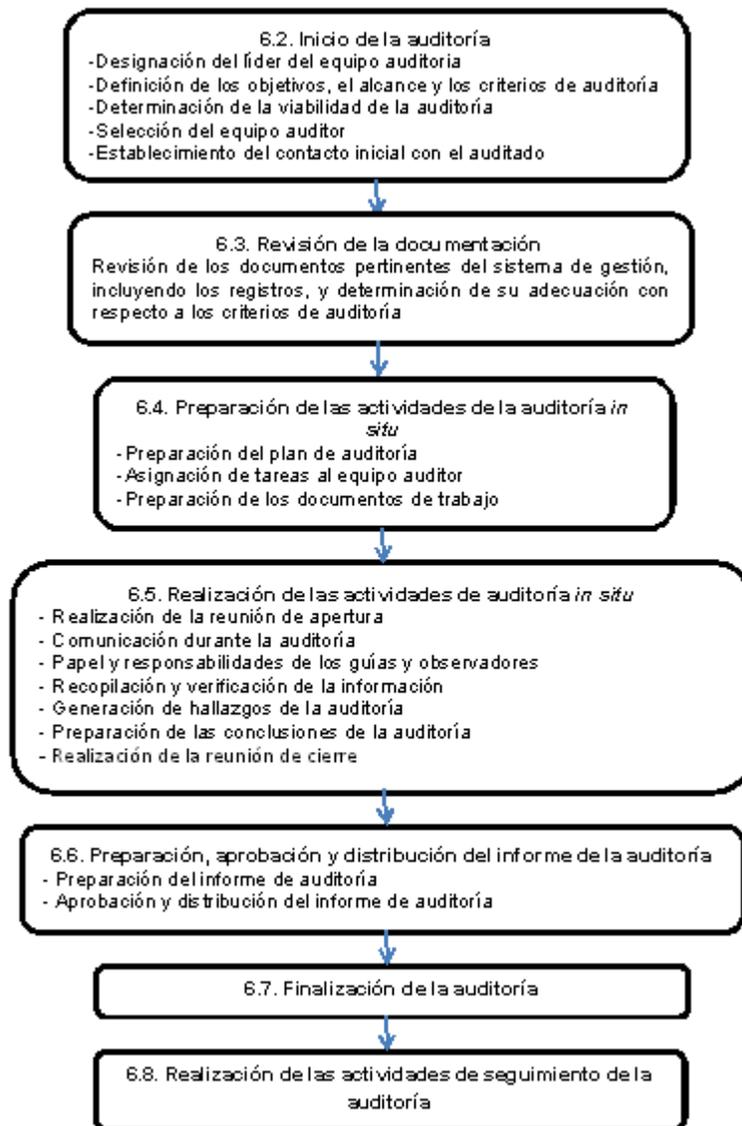
En la preparación de esta auditoría, fue importante la realización de un estudio preliminar. Esto, con el objeto de reunir información acerca de las actividades del laboratorio para conocer y comprender con un grado de detalle apropiado, los objetivos y estrategias del área, su estructura organizativa, la normativa vigente, los recursos humanos, los usuarios, los proveedores, las modalidades operativas principales, los procesos y procedimientos, los servicios que ofrece, la infraestructura informática, las políticas básicas, los recursos disponibles, evaluaciones anteriores, indicadores de gestión, mapas de riesgo, etc. Mediante un oficio dirigido a la jefatura de Laboratorios, se solicitó la información pertinente para la realización de este estudio.

Para llevar a cabo la auditoría interna, se tomó como referencia lo establecido en la NTC ISO 19011:2002 “Directrices para la auditoría de los sistemas de gestión de la calidad y/o ambiental”.¹⁰¹ La Norma ISO 19011 proporciona orientación sobre la gestión de los programas de auditoría, la realización de auditorías internas o externas de sistemas de gestión de la calidad y/o ambiental, así como sobre la competencia y evaluación de los auditores.¹⁰² En la figura 4 se presenta un esquema general de las actividades típicas de una auditoría.

¹⁰¹ INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMALIZACIÓN Y CERTIFICACIÓN. Directrices para la auditoría de los sistemas de gestión de la calidad y/o ambiental. NTC-ISO 19011. Bogotá D.C.: El instituto, 2002. 39 p.

¹⁰² INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMALIZACIÓN Y CERTIFICACIÓN. Directrices para la auditoría de los sistemas de gestión de la calidad y/o ambiental. NTC-ISO 19011. Op. cit., p 1.

Figura 4. Visión global de las actividades típicas de auditoría.¹⁰³



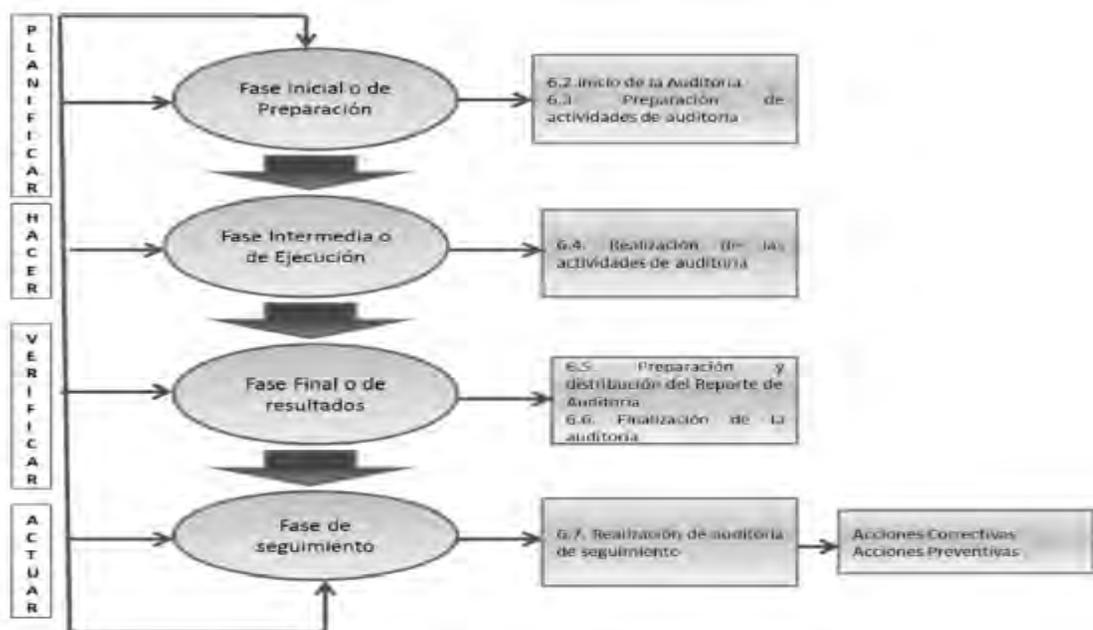
Así mismo se aplicó el Ciclo de Deming o ciclo “Planificar-Hacer-Verificar-Actuar”, el cual se caracteriza por ser dinámico, flexible y puede ser aplicado a cada uno de los procesos y las etapas de planificación, implementación, control y mejora tanto de los productos como de los procesos de los sistemas de gestión.¹⁰⁴ El Ciclo de calidad de Deming es una metodología que facilita la gestión del enfoque

¹⁰³ Ibid., p. 13

¹⁰⁴ YAÑEZ, Yaneth y YAÑEZ, Raiza. Auditorías, Mejora Continua y Normas ISO: Factores clave para la evolución de las organizaciones. En: Ingeniería Industrial. Actualidad y Nuevas Tendencias. Julio, 2012. vol. 3. no. 9., p.83-92.

basado en procesos. En el ciclo de calidad; planificación (P) incluye la determinación de objetivos y el desarrollo del enfoque de procesos, para luego realizar o hacer (H) el producto con los recursos necesarios, y llevar a cabo el despliegue a través de la medición de los diferentes factores del proceso (V) (verificar), registrando y analizando los datos, efectuando acciones correctivas y preventivas, realizando la revisión de la dirección y actuando (A) proponiendo mejoras a la política y los objetivos de calidad.¹⁰⁵ A continuación se muestra en la figura 5, el ciclo PHVA para la auditoría.

Figura 5. Fases del proceso de realización de auditorías internas de los sistemas de gestión de calidad.¹⁰⁶



Según lo anterior, el desarrollo de la auditoría se realizó teniendo en cuenta las siguientes etapas:

- Etapa 1. Realización de las actividades de auditoría - Planeación: En esta etapa se elaboró un plan de auditoría, el cual se muestra en el Anexo A. En él se definieron los objetivos, el alcance y los criterios de la auditoría. El alcance se definió de acuerdo a las necesidades del laboratorio consistentes en la aplicación de dicha auditoría al Laboratorio de Análisis Químico y Aguas, para evaluar los procedimientos y metodologías utilizados en el análisis de fósforo total en aguas y

¹⁰⁵ DEPARTAMENTO ADMINISTRATIVO DE LA FUNCIÓN PÚBLICA, RED UNIVERSITARIA DE EXTENSIÓN EN CALIDAD. Guía de Diseño para Implementar el Sistema de Gestión de la Calidad bajo la Norma Técnica de Calidad para la Gestión Pública NTCGP 1000:2004. Bogotá, D.C. Junio, 2007. 71p.

¹⁰⁶ Ibid., p.89

lixiviados, y realizar el seguimiento al cumplimiento de la NTC-ISO/IEC 17025:2005 para los parámetros ya acreditados (DQO, DBO₅, SST, ST, pH y Grasas y Aceites).

Se planificaron las actividades a desarrollar asignando responsabilidades al equipo auditor y se establecieron los documentos de trabajo. De esta manera se programó la auditoría para los días 20, 21, 25 y 26 de Marzo del 2014.

Como documento guía para la realización de la auditoría interna, se tomó la NTC ISO/IEC 17025:2005 y para desarrollar la actividad de la revisión se utilizó como instrumento una lista de verificación, donde se incluyen todos los ítems que componen esta norma en sus capítulos referentes a la gestión (Numeral 4) y los requisitos técnicos (Numeral 5). A continuación se muestra una copia del formato de la lista de verificación utilizada:

Figura 6. Formato Lista de verificación NTC-ISO/IEC 17025:2005

UNIVERSIDAD DE NARIÑO		LISTA DE VERIFICACIÓN CUMPLIMIENTO DE LA NORMA NTC ISO/IEC 17025:2005 PARA LABORATORIOS DE ENSAYO EN LA UNIVERSIDAD DE NARIÑO						Código: SGGFR-60	
								Página: 1 de 1	
								Versión: 1	
								Vigente a partir de: 2014-02-26	
D: Documentado - I: Implementado - NC: No Conformidad - OM: Oportunidad de mejora - NA: No Aplica									
Fecha de Auditoría	AA	MM	DD	Auditoría No.					
1. IDENTIFICACIÓN DEL LABORATORIO									
1.1 Nombre del laboratorio	LABORATORIO DE ANÁLISIS QUÍMICO Y AGUAS DE LA UNIVERSIDAD DE NARIÑO								
1.2 Nombre del Auditado	1. Jairo Edmundo España Castillo								
1.3 Cargo del Auditado	1. Jefe de la Sección de Laboratorios								
4.0 VERIFICACIÓN DE LA IMPLEMENTACIÓN DE LOS REQUISITOS RELATIVOS A LA GESTIÓN									
Requerimientos Norma ISO/IEC 17025:2005	Evidencia	D SI	I NO	NC SI	OM NO	NA	Comentarios del Evaluador	Puntaje (%) Documentado/Implementado	
5. VERIFICACIÓN DE LA IMPLEMENTACIÓN DE LOS REQUISITOS TÉCNICOS SEGÚN LA NORMA ISO 17025									
DATOS DE ELABORACIÓN									
	ELABORADO POR:			REVISADO POR:			APROBADO POR:		
CARGO:	Técnico Coordinador			Equipo de Calidad			Director/Oficina de Planeación y Desarrollo Representante de la Dirección		
NOMBRE:	María del Rosario Carreño			Jenny Luna María Angélica Inarasty Diana Molano			Raúl Alberto Quijano		
FIRMA:									
FECHA:	2014-02-26			2014-02-26			2014-02-26		
Control de Cambios									
Versión No.	Fecha de Aprobación			Descripción del Cambio					
1	2014-02-26			Creación del documento					

Fuente: Esta investigación

Durante la ejecución de la auditoría, para diligenciar la lista de verificación y para obtener las evidencias, el equipo auditor realizó entrevistas directas con el personal del laboratorio auditado o con terceros que tengan relación con las operaciones de éste, la observación de operaciones y procedimientos durante la ejecución de las actividades que realiza el laboratorio, la formulación de preguntas relacionadas con las operaciones del laboratorio, la revisión exhaustiva de toda la documentación referente al sistema de gestión del laboratorio, así como también la revisión de cálculos matemáticos, métodos estadísticos de las operaciones contenidas en los registros e informes del laboratorio, la trazabilidad de muestras y equipos, etc.

- Etapa 2. Entrega de resultados - Informe de auditoría: Con esta etapa se dio por finalizada la auditoría y se procedió a evaluar toda la información recopilada durante la misma.

Con base en la revisión con la lista de verificación y una vez obtenida la información, se procedió a realizar el estudio comparativo de la situación actual del laboratorio con respecto a la implementación de los Requisitos de Gestión y Requisitos Técnicos de la NTC ISO/IEC 17025, relacionados con el parámetro fósforo total, la cual se hizo por separado para obtener una visión más detallada de la eficacia y el grado de cumplimiento de esta norma internacional.

Las convenciones utilizadas para evaluar la información obtenida de la auditoría interna, se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 5. Convenciones de la Lista de verificación NTC-ISO/IEC 17025

CONVENCIONES	
SI	Cumplimiento del requisito
NO	Incumplimiento del requisito
DNI	Requisito que se encuentra documentado pero no implementado
NDI	Requisito que no se encuentra documentado pero si implementado

Fuente: Esta investigación

De las revisiones efectuadas y de la información obtenida a partir de las entrevistas durante la ejecución de la auditoría, se elaboró y presentó el **INFORME AUDITORÍA INTERNA NTC-ISO/IEC 17025:2005**, en el cual se identificaron las fortalezas del laboratorio y hallazgos No conformes y Oportunidades de Mejora, cuyo levantamiento le permitirá al laboratorio el fortalecimiento del sistema implementado y el cumplimiento no solo de la norma objeto de evaluación, sino de sus procedimientos internos.

Finalmente, se efectuó la reunión de cierre con el equipo auditor y el personal que hace parte del Laboratorio de Análisis Químico y Aguas, para socializar el informe de auditoría presentando los hallazgos (fortalezas, oportunidades de mejora y no conformidades) y las conclusiones de la auditoría. Esta reunión se llevó a cabo el 27 de Marzo del 2014.

✓ **Elaboración del Plan de Acción**

Para dar cumplimiento al segundo objetivo del proyecto, de los resultados obtenidos del análisis de la situación actual del Laboratorio de Análisis Químico y Aguas, de la ejecución de la auditoría interna y de la presentación del informe de auditoría, surgió la necesidad de materializar estrategias para el mantenimiento del sistema de gestión de calidad que permitan su mejor desempeño. Para ello se procedió a la elaboración de un plan de acción, en el formato institucional **SOLICITUD DE ACCIONES DE MEJORA, PREVENTIVAS, CORRECTIVAS O CORRECTORAS** con código **SGC-FR-08**, en el cual se establecieron las acciones correctivas y preventivas que se debían tomar para dar solución a los hallazgos No Conformes y Oportunidades de Mejora encontrados, el compromiso por parte del responsable del proceso o dependencia auditada y las fechas de apertura y cierre para cada una de las actividades propuestas. A continuación se presenta el formato del plan de acción utilizado.

Figura 7. Formato Solicitud de Acciones de Mejora, Preventivas, Correctivas o Correctoras.

		SISTEMA INTEGRADO DE GESTIÓN DE CALIDAD						Código: SGC-FR-08								
								Página: 1 de 1								
		SOLICITUD DE ACCIONES DE MEJORA, PREVENTIVAS, CORRECTIVAS O CORRECTORAS						Versión: 5								
								Vigencia a partir de: 2012-01-18								
PROCESO: PROYECCIÓN SOCIAL - LABORATORIOS																
DESCRIPCIÓN DE LA SITUACIÓN DETECTADA:																
IMPACTO: Afecta efectividad Afecta imagen Afecta sostenibilidad Otro:																
ANÁLISIS DE CAUSAS:																
METODOLOGÍA UTILIZADA PARA EL ANÁLISIS DE CAUSAS:																
CATEGORÍA: Método no Incumplimiento Falta de Entrenamiento o conocimiento: Falta de Recursos: Planeación																
PLAN DE ACCIÓN A DESARROLLAR																
No	Fecha identificación del problema o servicio no conforme (d-m-a)	PROBLEMA O SERVICIO NO CONFORME				TIPO DE ACCIÓN			ACCIÓN	RESPONSABLE (Cargo, Dependencia)	FECHA DE SEGUIMIENTO (a-m-d)	FECHA DE CIERRE PROGRAMADA (a-m-d)	¿LA ACCIÓN FUE EFECTIVA?		FECHA DE CIERRE REAL (a-m-d)	OBSERVACIONES DE LA IMPLEMENTACIÓN DE LAS ACCIONES
		Potencial	Real	Requisito(s)	Requisito(s)	CORRECTORA	DE MEJORA	PREVENTIVA					CORRECTIVA	SI		
1	Auditoría interna 20, 21, 25 y 26 de marzo 2014															
3																
4																
ELABORADO POR:										REVISADO POR:		APROBADO POR:				
CARGO: Profesional de Laboratorios										Asesor de Calidad		Jefe Sección de Laboratorios				
NOMBRE: MARYLUZ VALEN CIA ENRIQUEZ										JENNY LUNA		GERMÁN CHAVES JURADO				
FIRMA:										FIRMA:		FIRMA:				
FECHA:										FECHA:		FECHA:				

Fuente: Esta investigación

- **Etapa 3. Seguimiento de la auditoría:** En esta etapa, es responsabilidad del auditor hacer seguimiento al cumplimiento de las acciones tomadas por el auditado para verificar su eficacia y el cierre de las No Conformidades y Oportunidades de Mejora detectadas.

El seguimiento de la auditoría se realizó a partir de la revisión del cumplimiento del plan de acción, mediante la programación de reuniones periódicas cada seis meses.

3.2.2. Fase 2. Validación de los métodos analíticos

Debido a que el Laboratorio de Análisis Químico y Aguas no cuenta con la suficiente evidencia estadística para la determinación de fósforo total en aguas y lixiviados, y con el propósito de ampliar el alcance de acreditación del laboratorio incluyendo el parámetro de fosforo total, en esta fase se procedió a validar los métodos colorimétricos del Cloruro Estañoso y del Ácido Ascórbico usados para su análisis y realizar una comparación de éstos.

3.2.2.1. Toma de la muestra

a) Selección del sitio de muestreo

Para ello, se tuvieron en cuenta los siguientes aspectos:

- **Accesibilidad.** El punto de muestreo debe estar en un lugar fácilmente accesible con las vías de acceso vehicular y peatonal que sean necesarias, de tal manera que se facilite obtener las muestras y transportar la carga que implican los equipos y materiales de muestreo.
- **Representatividad.** El punto de recolección de las muestras debe ser lo más representativo posible de las características generales del cuerpo de agua. Esto significa que el cuerpo de agua debe estar mezclado totalmente en el lugar de muestreo, lo que se evalúa según la turbulencia, velocidad y apariencia física del cuerpo de agua y que le brinden homogeneidad. La representatividad se evaluó a partir de los resultados obtenidos en la evaluación de la exactitud de los métodos colorimétricos que se validaron, así como con la estimación de la incertidumbre debida a la precisión de las muestras.
- **Seguridad.** El punto de muestreo, sus alrededores y las condiciones meteorológicas deben garantizar la seguridad de quienes toman las muestras, de tal manera que se minimicen los riesgos de accidentes y de lesiones personales.¹⁰⁷

¹⁰⁷SISTEMA INTEGRADO DE GESTIÓN DE LA CALIDAD. Instructivo: Muestreo - Agua. Versión 4. Código: LBE-PRS-IN- 03. Proceso: Proyección Social. Octubre, 2014. 17p.

b) Recolección de muestras

Se recolectaron las muestras en un lugar y tiempo específicos y que reflejen las características particulares de las mismas para el momento y sitio de su recolección.¹⁰⁸ Las muestras de agua cruda y residual fueron muestras puntuales, recolectadas mediante muestreo simple.

Se seleccionaron dos sitios para la recolección de las muestras:

-Muestra de agua cruda: Quebrada El Cuscungo.

-Muestra de agua residual: Vertimiento alcantarillado municipal Club de Tenis.

La muestra de lixiviado fue recolectada por la Empresa Metropolitana de Aseo, EMAS S.A. E.S.P, la cual en sus análisis de rutina utiliza los servicios prestados por el Laboratorio de Análisis Químico y Aguas. El tipo de muestreo utilizado por la empresa mencionada fue un muestreo simple, una vez recolectada la muestra fue llevada a las instalaciones del Laboratorio para su respectivo análisis. Esta muestra fue tomada del afluente Planta de Tratamiento de Lixiviados, Vaso 2.

c) Almacenamiento de muestras

Las muestras se almacenaron en el refrigerador del Laboratorio de Análisis Químico y Aguas a 4°C bajo las condiciones mostradas en la tabla 6.

Tabla 6. Requisitos para la toma y preservación de las muestras¹⁰⁹

PARÁMETRO	RECIPIENTE DE MUESTRA	VOLUMEN MINIMO	PRESERVACION
Fósforo total	Plástico	100 mL	Adicionar H ₂ SO ₄ hasta pH<2 y refrigerar

3.2.2.2. Validación y comparación de los métodos analíticos para la determinación de fósforo total en aguas crudas, aguas residuales y lixiviados

Los métodos analíticos que se validaron fueron los métodos normalizados publicados en el libro Standard Methods for the examination of water and wastewater, Edición 22. Dichos métodos colorimétricos son: 4500 – P D. Método del cloruro estañoso y 4500 – P E. Método del ácido ascórbico. Estos métodos se utilizaron para el análisis de fósforo total en aguas crudas, aguas residuales y lixiviados.

¹⁰⁸SISTEMA INTEGRADO DE GESTIÓN DE LA CALIDAD. Op. cit., p 16

¹⁰⁹AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION, WATER POLLUTION CONTROL FEDERATION. Op. cit., p. 1-39, 1-40.

3.2.2.2.1. Matriz AMEF para el análisis de Fosforo Total en aguas y lixiviados

Teniendo en cuenta la metodología experimental para el análisis de fósforo total en aguas y lixiviados, se elaboró una matriz AMEF con el fin de identificar los modos de falla potenciales, sus posibles causas y el efecto que puedan generar las fallas en cada una de las etapas del proceso analítico y con ello determinar las acciones que pudieran eliminar o reducir la posibilidad de que ocurra el modo de falla.

Los criterios que se tuvieron en cuenta para asignar el puntaje a la Ocurrencia, la Severidad y la Detección, se muestran en las tablas 7, 8 y 9. Los rangos de ocurrencia se basan en la probabilidad de que la causa de falla potencial ocurra; para la severidad se tiene en cuenta el efecto de falla potencial y el rango de probabilidad de detección está basado en la efectividad del sistema de control actual.¹¹⁰

Tabla 7. Puntaje Ocurrencia¹¹¹

Frecuencia	Puntaje
Remota	1
Muy poca	2
Poca	3
Moderada	4,5,6
Alta	7,8
Muy alta	9 y 10

Tabla 8. Puntaje Severidad¹¹²

Efecto	Puntaje
No	1
Muy poco	2
Poco	3
Menor	4
Moderado	5
Significativo	6
Mayor	7
Extremo	8
Serio	9
Severo	10

¹¹⁰FUNDIBEQ, Fundación Iberoamericana para la Gestión de la Calidad. Análisis de Modo y Efecto de Falla. [citado en 26 julio de 2015]. Disponible en Internet: <<http://www.fundibeq.org/opencms/export/sites/default/PWF/downloads/gallery/methodology/tools/amfe.pdf>>

¹¹¹ Ibid., p. 15

¹¹² Ibid., p. 17

Tabla 9. Puntaje Detección¹¹³

Criterio	Puntaje
Alto	1
Moderado	2-5
Baja	6-8
Muy baja	9
Improbable	10

La prioridad del problema, se obtiene a través del índice conocido como Número Prioritario de Riesgo (NPR). Este número es el producto de los valores de ocurrencia, severidad y detección. Una vez el NPR se ha determinado, se inicia la evaluación sobre la base de definición de riesgo. Usualmente este riesgo es definido por el equipo que realiza el estudio, teniendo como referencia criterios como: menor, moderado, alto y crítico.¹¹⁴

Tabla 10. Puntaje NPR¹¹⁵

Riesgo	Puntaje
Menor	250
Moderado	500
Alto	750
Crítico	800 -1000

El criterio de riesgo podría ser:

- Debajo de un riesgo menor, no se toma acción alguna.
- Debajo de un riesgo moderado, alguna acción se debe tomar.
- Debajo de un alto riesgo, acciones específicas se deben tomar. Se realiza una evaluación selectiva para implantar mejoras específicas.
- Debajo de un riesgo crítico, se deben realizar cambios significativos del proceso.

3.2.2.2.2. Plan de validación

Se elaboró un plan de validación en el formato de Proyección Social con código: LBE-PRS-FR-123 Versión 4. El plan de validación se presenta en el Anexo B.

Debido a que los métodos a validar, son métodos normalizados, los parámetros de desempeño que se evaluarán son: Intervalo lineal y de trabajo, Limite de detección, Limite de cuantificación, Recuperación, Sesgo, Repetibilidad, Reproducibilidad e Incertidumbre.

¹¹³ Ibid., p. 19

¹¹⁴ Ibid., p. 13

¹¹⁵ Ibid., p. 18

3.2.2.2.3. Materiales y Equipos

➤ Materiales

Balones aforados clase A
Erlenmeyers
Pipetas aforadas clase A
Embudos de vidrio
Probetas clase A
Papel filtro cuantitativo. Grado 388. Franja negra.

➤ Limpieza del material de laboratorio utilizado

El lavado de material de vidrio se realizó de acuerdo al procedimiento establecido en el instructivo con código LBE-PRS-IN 01, versión 3.

El material de vidrio utilizado en la validación de los métodos analíticos para determinar fósforo total en aguas crudas, aguas residuales y lixiviados, se lavó con una solución al 5% de detergente EXTRAN libre de fosfatos y se enjuagó con agua de grifo. Luego se enjuagó con agua tipo 2 (filtrada desionizada), seguido de varios lavados con una solución de HNO₃ al 10%. Finalmente se lavó varias veces con agua tipo 2.

➤ Equipos

Todos los equipos utilizados cuentan con su respectivo certificado de calibración.

La periodicidad de calibración de los equipos es cada año o dependiendo del resultado de las verificaciones mensuales que ejecuta el personal de Soporte Técnico del laboratorio.

Figura 8. Balanza analítica OHAUS



Fuente: Esta investigación

Figura 9. Espectrofotómetro Pharo 300



Fuente: Esta investigación

Figura 10. Espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 11



Fuente: Esta investigación

Figura 11. Purificador de agua tipo 2



Fuente: Esta investigación

En la siguiente tabla se muestran las especificaciones de los equipos utilizados.

Tabla 11. Especificaciones de los equipos

Equipo	Descripción	
Balanza analítica OHAUS	Carga máxima	210 g
	Carga mínima	0,01 g
	División de escala	0,0001 g
	Escalón de verificación	0,001 g
	Desviación estándar	0,0001 g
	Incertidumbre original (Uo)	0,0002646
	Fecha de la última calibración	02/02/2014
Espectrofotómetro Pharo 300 MERCK	Técnica	Espectrometría de absorción UV-Visible
	Fuente luminosa	Lámpara flash de xenón
	Monocromador	Monocromador reticulado con motor paso a paso
	Rango de longitud de onda	190nm – 1100 nm
	Medición fotométrica	Sensor de luz: fotodiodo
	Fecha de la última calibración	22/01/2014
Espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 11	Técnica	Espectrometría de absorción UV-Visible
	Fuente luminosa	Lámpara incandescente (rango visible) Lámpara ultravioleta (rango UV)
	Velocidad	960nm/min
	Rango de longitud de onda	200nm - 900nm
	Medición fotométrica	Sensor de luz: fotodiodo
	Fecha de la última calibración	29/01/2014
Purificador de agua tipo 2	Marca	Sartorius
	Modelo	Arium 61316
	El equipo consta de: <u>Filtros externos</u> 1 filtro de polipropileno de 5µ. 1 filtro de carbón activado. 1 filtro de cerámica. <u>Filtros internos</u> 1 cartucho de pretratamiento (prefiltro) 2 módulos de ósmosis inversa. Desionizador de resinas catiónica y aniónica.	

Fuente: Sección de Laboratorios y Equipos de la Universidad de Nariño

3.2.2.2.4. Reactivos

- **Agua tipo 2: Agua filtrada desionizada**

Características

- pH: Entre 6 – 7,5
- Conductividad eléctrica a 25°C en µs/cm: Máxima de 1-5, son aplicables para agua recién preparada durante su conservación se pueden producir cambios en la

conductividad debido a contaminantes tales como el CO₂ y a los álcalis de los recipientes de vidrio.

- **Preparación de reactivos**

Solución patrón de 50 ppm de Fósforo: Se tomó en un vidrio de reloj una cantidad del reactivo KH₂PO₄ anhidro y se dejó en la mufla a 105°C durante una hora. Al cabo de este tiempo se pesaron 219,5 mg (0,2195g) de este reactivo, se disolvieron en agua destilada y se aforó la solución a 1 litro. Se preservó agregando 2 gotas de HNO₃ y se almacenó en el refrigerador a 4°C.

Matriz de referencia: La preparación de las matrices de referencia en el laboratorio se hizo teniendo en cuenta algunos componentes que puedan generar interferencias en los métodos analíticos validados¹¹⁶, mencionados en la sección 2.7.2.5, y que además estén presentes en las muestras reales, así como también la composición media de dichas muestras; esta información se obtuvo de los análisis realizados en los últimos meses por el Laboratorio de Análisis Químico y Aguas de la Universidad de Nariño y la Corporación Autónoma Regional de Nariño, CORPONARIÑO. En la tabla 12 se muestra esta información.

Tabla 12. Composición media para Agua Cruda, Agua Residual y Lixiviado

Muestra	DBO ₅ (mg/L)	Nitratos mg NO ₃ /L	Sulfatos mg SO ₄ /L	Cloruros mg Cl/L	Calcio (mg/L)	Magnesio (mg/L)	Zinc (mg/L)	Hierro (mg/L)
Agua Cruda	4,383	0,334	18,51	3,012	40,66	5,33	0,0173	0,498
Agua Residual	160,22	3,23	82,68	4,64	42,86	7,76	0,0213	1,9
Lixiviado	1574,21	38,7	199	9,42	48,133	145,68	0,063	4,496

Fuente: Laboratorio de Análisis Químico y Aguas Universidad de Nariño - Corporación Autónoma Regional de Nariño CORPONARIÑO.

Partiendo de la información presentada en la tabla 12, se prepararon las matrices de referencia cuya composición para agua cruda, agua residual y lixiviado se muestra en la tabla 13.

Tabla 13. Composición de las matrices de referencia preparadas para Agua Cruda, Agua Residual y Lixiviado.

Muestra	DBO ₅ (mg/L)	Nitratos mg NO ₃ /L	Sulfatos mg SO ₄ /L	Cloruros mg Cl/L	Calcio (mg/L)	Magnesio (mg/L)	Zinc (mg/L)	Hierro (mg/L)
Agua Cruda	4	0,4	18	3	40	5	0,1	0,5

¹¹⁶Ibid., p. 4-153.

Agua Residual	200	4	83	5	42	8	0,1	2
Lixiviado	1000	40	200	10	50	100	0,1	5

Fuente: Esta investigación

Para la preparación de las matrices de referencia de cada tipo de muestra, se utilizaron las siguientes soluciones estándar:

- Patrón de NO₃ de 100ppm
- Patrón de SO₄ de 100ppm
- Patrón de Ca Titrisol de 1000ppm
- Patrón de Mg Titrisol de 100ppm
- Patrón de Zn de 100ppm
- Patrón de Fe de 100ppm

Para simular la materia orgánica de la muestra de referencia, se utilizaron los reactivos ácido glutámico y glucosa, los cuales se usaron para la preparación de los patrones de DBO₅.

Solución fuerte de ácido: Se añadieron lentamente 300 mL de H₂SO₄ concentrado a 600 mL de agua destilada, cuando la solución se enfrió, se agregaron 4 mL de HNO₃ concentrado y aforó a 1 L.

Reactivo de molibdato amónico: Se disolvieron 25 g de (NH₄)₆Mo₇O₂₄·4H₂O en 175 mL de agua destilada. Se añadieron 280 mL de H₂SO₄ concentrado a 400 mL de agua destilada, se dejó enfriar, se añadió la solución de molibdato y se aforó a 1 L. Este reactivo es estable y no precisa conservadores ni un almacenamiento especial.

Reactivo de cloruro estañoso: Se disolvieron 2,5 g de SnCl₂·2H₂O en 100 mL de glicerol. Se disolvió en baño de agua. Este reactivo es estable y no precisa conservadores ni un almacenamiento especial.

Solución de tartrato antimonílico potásico: Se disolvieron 1,3715 g de K(SbO)C₄H₄O₆·1/2H₂O en 400 mL de agua destilada y se aforó a 500 mL, el reactivo se conservó en un frasco con tapón de vidrio.

Solución Ácido Sulfúrico H₂SO₄ 5N: Se diluyeron 70 mL de H₂SO₄ concentrado a 500 mL con agua destilada.

Solución de molibdato amónico: Se disolvieron 20 g de (NH₄)₆Mo₇O₂₄·4H₂O en 500 mL de agua destilada. El reactivo se conservó en un frasco con tapón de vidrio.

Ácido Ascórbico 0,01M: Se disolvieron 1,76 g de ácido ascórbico en 100 mL de agua destilada. El reactivo se preparó en el momento previo al análisis.

Reactivo combinado: Se mezclaron todos los reactivos anteriores en las siguientes proporciones para 100 mL de reactivo combinado: 50 mL de H_2SO_4 5N, 5 mL de de tartrato antimonílico potásico, 15 mL de Solución de molibdato amónico y 30 ml de solución de Ácido Ascórbico 0,01M. El reactivo es estable durante 4 horas.

3.2.2.2.5. Procedimiento de los métodos analíticos

➤ Tratamiento de las muestras

Proceso de digestión con ácido perclórico

Se midieron 100 mL de cada solución estándar incluyendo los dos blancos de reactivos en una probeta clase A/AS y se transfirieron a erlenmeyers de 250 mL, se acidificaron con 3 mL de HNO_3 concentrado y se sometieron a evaporación sobre una placa caliente hasta 15 mL-20 mL; se dejaron enfriar y luego se agregaron 3 mL de $HClO_4$ concentrado; se llevaron nuevamente a calentamiento durante 75 minutos aproximadamente hasta la aparición de humos blancos de $HClO_4$. Una vez estuvieron las soluciones transparentes se dejaron enfriar.

Figura 12. Proceso de digestión con Ácido Perclórico – Emisión de humos blancos



Fuente: Esta investigación

Posteriormente se agregó una gota de fenolftaleína a cada solución y entre 4-5 mL de NaOH 6N hasta que cada solución virara al rosa.

Figura 13. Cambio de coloración de las soluciones por la adición de NaOH 6N



Fuente: Esta investigación

A continuación se adicionó solución de ácido fuerte gota a gota hasta que la soluciones se decoloraron (4 gotas máximo).

Luego se filtró cada solución en papel filtro cuantitativo grado 388 franja negra y se aforó a 100 mL con agua tipo 2en balones aforados clase A/AS. Posteriormente se dividieron las soluciones midiendo en probetas clase A/AS, 50 mL se utilizaron para el análisis de fósforo total por el método del cloruro estañoso y los 50 mL restantes para el análisis de fósforo total por el método del ácido ascórbico.¹¹⁷

Desarrollo del color

Después del proceso de digestión se realizó el análisis de fósforo total en cada solución previamente dividida en 50mL, mediante los dos métodos colorimétricos (cloruro estañoso y ácido ascórbico), de la siguiente manera:

- **Método del Cloruro Estañoso**

Se añadieron a cada solución 2 mL de reactivo de molibdato amónico y 5 gotas de reactivo de cloruro estañoso. Después de los 10 minutos de adicionado el reactivo y antes de los 30 minutos, se midió el color fotométricamente a 690 nm.¹¹⁸ El tiempo fue controlado mediante el uso de un cronómetro.

¹¹⁷Ibid., p. 4-151.

¹¹⁸Ibid., p. 4-155.

Figura 14. Desarrollo del color. Método del Cloruro estañoso. Concentración 0,2ppm de fósforo



Fuente: Esta investigación

- **Método del Ácido Ascórbico**

Se añadieron a cada solución 8 ml de reactivo combinado. Después de los 10 minutos de adición del reactivo y antes de los 30 minutos se midió la absorbancia a 880 nm.¹¹⁹El tiempo fue controlado mediante el uso de un cronómetro.

Figura 15. Desarrollo del color. Método del ácido ascórbico. Concentración 0,2ppm de fósforo



¹¹⁹Ibid., p. 4-157.

Fuente: Esta investigación

3.2.2.2.6. Parámetros de desempeño que se evalúan para la validación de los métodos analíticos

Cada análisis se hizo simultáneamente usando los dos métodos colorimétricos (cloruro estañoso y ácido ascórbico) y las lecturas se hicieron de igual forma en ambos espectrofotómetros (Perkin Elmer Lambda 11 y Pharo 300).

Tabla 14. Parámetros de desempeño que se evaluaron para la validación de los métodos analíticos

Parámetro de desempeño	Actividad
Linealidad	<p><i>a) Intervalo lineal:</i> A partir de una solución patrón de 50 ppm de Fósforo, se preparó una serie de soluciones de 8 estándares de concentraciones de 0.1, 0.2, 0.4, 0.5, 0.6, 0.8, 1.0 y 1.2 ppm de Fósforo, cada estándar se preparó por duplicado y se determinó mediante los métodos colorimétricos (cloruro estañoso y ácido ascórbico), así mismo las lecturas de las absorbancias se hicieron utilizando dos espectrofotómetros (Perkin Elmer Lambda 11 y Pharo 300). Este proceso se repitió durante siete días.</p> <p>Para la determinación del intervalo lineal se realizaron las curvas de calibración o de trabajo, graficando absorbancia (Y) Vs Concentración (X); en cada caso se obtuvieron 14 curvas de calibración. Para cada curva se calculó la pendiente (m), el intercepto (b) y el coeficiente de correlación (r). Las curvas de calibración se promediaron y a partir de la curva promedio se evaluó la linealidad de los métodos analíticos.</p> <p><i>b) Intervalo de trabajo:</i> A partir de los resultados obtenidos en el intervalo lineal se determinó el intervalo de trabajo.</p>
Sensibilidad	A partir de la curva de calibración o de trabajo, se utilizó el valor de la pendiente (m), el cual da indicio de la sensibilidad de los métodos analíticos
Límite de detección (LOD) y Límite de cuantificación (LOQ)	<ul style="list-style-type: none"> - Se realizaron las medidas de 10 blancos preparados con agua tipo 2 durante 5 días. - Se realizaron las medidas de 10 blancos preparados con las matrices de referencia de agua cruda, de agua residual y de lixiviados, de acuerdo a lo reportado en la Tabla 13: "Composición de las matrices de referencia preparadas para Agua Cruda, Agua Residual y Lixiviado". Cada lote de blancos de referencia se analizó por separado y en días diferentes. - Para determinar los LOD y LOQ se utilizaron los dos métodos presentados en la sección 2.8.2.3. "Límite de Detección (LOD) y de Cuantificación (LOQ)" para la cual se utilizaron los resultados obtenidos en las lecturas de los blancos de agua tipo 2 y de los blancos de las matrices de referencia de agua cruda, de agua residual y de lixiviados.

Tabla 14.Continuación

Parámetro de desempeño	Actividad
Límite de cuantificación estimado.	<p>- Se prepararon soluciones estándar de concentraciones cercanas a los LOQ obtenidos mediante los métodos mencionados en la sección 2.8.2.3, de esta manera se prepararon soluciones de 0,1; 0,08; 0,05 y 0,03 ppm de fósforo con agua tipo 2; para cada nivel de concentración se prepararon 10 soluciones.</p> <p>- Se eligió como LOQ el nivel de concentración que presenta menor %CV y menor %error relativo.</p> <p>- Se prepararon 10 soluciones estándar de 0,1ppm de fósforo con las matrices de referencia de agua cruda, de agua residual y de lixiviado.</p>
Precisión: Repetibilidad	Se analizaron estándares de concentración baja ($E_b = 0,1$ ppm de fósforo), media ($E_m = 0,5$ ppm de fósforo) y alta ($E_a = 1,0$ ppm de fósforo), para un total de cinco réplicas por concentración en un mismo día de trabajo, analizadas en el mismo equipo.
Precisión: Reproducibilidad	Se analizaron estándares de concentración baja ($E_b = 0,1$ ppm de fósforo), media ($E_m = 0,5$ ppm de fósforo) y alta ($E_a = 1,0$ ppm de fósforo), para un total de cinco réplicas por concentración, las determinaciones se hicieron en 2 días diferentes, con los 2 métodos colorimétricos (cloruro estañoso y ácido ascórbico) y las lecturas de absorbancia se hicieron con los 2 equipos (Perkin Elmer Lambda 11 y Pharo 300)
Efecto matriz	Se Prepararon las matrices de referencia para agua cruda, agua residual y lixiviados, a partir de lo mencionado en la tabla 13. “Composición de las matrices de referencia preparadas para Agua Cruda, Agua Residual y Lixiviado”, se analizaron 10 blancos de referencia para cada matriz y se analizaron también 10 soluciones estándar de 0,1 ppm de fósforo preparadas con las matrices de referencia de cada matriz.
Exactitud	Se analizaron simultáneamente y por duplicado durante 5 días muestras reales de agua cruda, de agua residual, de lixiviado, soluciones estándar de 0,2; 2,0 y 50 ppm de fósforo, y muestras adicionadas con estándares así: para el caso de la muestra de agua cruda se le adicionó una concentración de 0,2 ppm de fósforo, a la muestra de agua residual se le adicionó una concentración de 2 ppm de fósforo y a la muestra de lixiviado se le adicionó una concentración de 50 ppm de fósforo.
Incertidumbre	Para realizar la estimación de la incertidumbre se llevaron a cabo los siguientes pasos: <ol style="list-style-type: none"> 1. Identificación de las fuentes de incertidumbre. 2. Determinación de la incertidumbre estándar y combinación de las diferentes incertidumbres 3. Determinación de la incertidumbre expandida, multiplicando la incertidumbre combinada por un factor de cobertura de $k=2$.

Fuente: Esta investigación

✓ **Análisis estadístico**

Para todos los grupos de datos obtenidos durante el trabajo se aplicaron métodos estadísticos como análisis de varianza para calcular las variables quimiométricas, de acuerdo con las técnicas estadísticas básicas, según las fórmulas descritas y la simbología:

x_i = valor medido

\bar{X} = valor promedio de una serie de datos, $\bar{X} = (\sum x_i) / n$

s = desviación estándar de una muestra de datos

n = número de datos de cada serie

t_{n-1} = factor t consignado en las tablas de probabilidades en relación con los grados de libertad.

r^2 = Coeficiente de determinación.

LC= Límites de confianza al 95%

CV= Coeficiente de variación

El tratamiento estadístico de datos se realizó haciendo uso de los programas Microsoft Office Excel 2010 y Stat Graphics Centurión XVI.

✓ **Rechazo de Datos**

Para verificar que en una serie de datos, alguno o algunos de los valores no difieran del resto de forma inexplicable (errores crasos) se aplicó un contraste de datos anómalos, en el cual se plantea la hipótesis nula H_0 : todas las medidas proceden de la misma población, que se prueba mediante el contraste de Grubbs (formalmente simbolizado por una G):

$$G = \frac{|\text{valor sospechoso} - \bar{X}|}{s}$$

Ecuación 44

Se ordenaron los datos de menor a mayor y por definición los valores sospechosos serían el valor mínimo y el valor máximo, para los cuales se aplica la anterior fórmula. Se acepta la hipótesis nula si G calculado es menor que el valor de t crítico para una probabilidad de 0,05 (nivel de confianza del 95%) y n mediciones (valores de la distribución t para calcular LC 95 %, gl); de lo contrario se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa H_1 : el valor comparado no pertenece a la misma población de datos y es un dato anómalo que debe ser rechazado para efectuar los cálculos estadísticos sucesivos.

En caso de rechazar algún dato sospechoso se volvió a aplicar el criterio de igual manera para el grupo de datos restantes.

Se evaluaron en todos los pasos de la estandarización los valores obtenidos para evitar datos anómalos¹²⁰.

✓ **Límites de confianza al 95%**

Para el cálculo de los Límites de confianza se utilizó la siguiente ecuación¹²¹:

$$LC = x \pm z * s / \sqrt{n} \text{ Ecuación 45}$$

Donde,

z= 1,96 cuando n>30
x= Valor promedio de x
s= Desviación estándar
n= Número de datos

Para muestras pequeñas, los límites de confianza de la media vienen dados por

$$LC = x \pm t_{n-1} * s / \sqrt{n} \text{ Ecuación 46}$$

t_{n-1}= Valor de t tabulado al 95% de confianza.
x= Valor promedio de x
s= Desviación estándar
n= Número de datos

El valor de t depende del número de datos

✓ **Cálculo del error estándar del estimado**

$$Se = \sqrt{\frac{\sum yi^2 - b \sum yi - m \sum xiyi}{n-2}} \text{ Ecuación 47}$$

Donde,
Se= Error estándar del estimado
yi= Variable dependiente
xi= Variable independiente
m= Pendiente
b= Ordenada en el origen

¹²⁰ TAYLOR, Jonh. CIHON, Cheryl. Statistical techniques for data analysis.2 ed. New York: Chapman & Hall/CRC, 2004. p.103.

¹²¹ MILLER Y MILLER. Op. cit. p 31.

✓ **Cálculo de la pendiente y la ordenada en el origen**

Para calcular la pendiente se utilizó la siguiente ecuación:

$$m = \frac{n \sum_{i=1}^n x_i y_i - \sum_{i=1}^n x_i \sum_{i=1}^n y_i}{n \sum_{i=1}^n x_i^2 - (\sum_{i=1}^n x_i)^2} \text{ Ecuación 48}$$

Donde,

m= Pendiente

x_i= Variable independiente

y_i= Variable dependiente

Para calcular la ordenada en el origen se utilizó la siguiente ecuación:

$$b = \frac{\sum_{i=1}^n y_i - m \sum_{i=1}^n x_i}{n} \text{ Ecuación 49}$$

Donde,

b= Ordenada en el origen

x_i= Variable independiente

y_i= Variable dependiente

n= Número de datos

✓ **Cálculo del error de la pendiente y de la ordenada en el origen**

Para calcular el error de la pendiente se utilizó la siguiente ecuación:

$$\Delta m = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i - m x_i - b)^2}{(n-2) \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}} \text{ Ecuación 50}$$

Donde;

Δm= Error de la pendiente

m= Pendiente

x_i= Variable independiente

y_i= Variable dependiente

x= Valor promedio de concentración

b= Ordenada al origen

Para calcular el error de la ordenada al origen se utilizó la siguiente ecuación:¹²²

$$\Delta b = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i - mx_i - b)^2}{n(n-2)}} \quad \text{Ecuación 51}$$

¹²²HERNANDEZ, Teoría de errores. En: Tratamiento de datos experimentales. 2005. p. 113.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Teniendo en cuenta lo expuesto anteriormente en la sección de metodología, a continuación se muestran los resultados.

4.1. FASE 1. DIAGNÓSTICO DE LA SITUACIÓN ACTUAL DEL LABORATORIO CON RESPECTO AL SISTEMA DE CALIDAD.

A partir de la previa revisión documental, de la información recopilada mediante las entrevistas y visitas in situ, de la aplicación de la lista de verificación, se obtuvieron los resultados que se muestran a continuación.

4.1.1. Auditoría Interna NTC ISO/IEC 17025:2005

Uno de los aportes fundamentales de este proyecto y en cumplimiento con la NTC-ISO/IEC 17025:2005, fue la realización de una auditoría interna, como una herramienta de control y de mejora continua dentro de los procesos del laboratorio para verificar que sus operaciones implementadas cumplen con los requisitos del sistema de gestión con base a la norma ISO/IEC 17025:2005.

Los resultados de la planeación y la ejecución de la auditoría interna, se describen a continuación:

- Etapa 1. Realización de las actividades de auditoría – Planeación

La ejecución de la auditoría interna tuvo lugar los días 20, 21, 25 y 26 de Marzo del 2014, dando cumplimiento con lo establecido en el plan de auditoría mostrado en el Anexo A.

Así mismo se diligenció el formato mostrado en la figura 7 correspondiente a la Lista de verificación.

- Etapa 2. Entrega de resultados - Informe de auditoría

Los resultados obtenidos de la revisión de los Requisitos de Gestión y Requisitos Técnicos, evaluados mediante la aplicación de la lista de verificación, tanto para el parámetro Fósforo Total como para los parámetros que se encuentran acreditados se resumen en las tablas 15 y 16.

Tabla 15. Evaluación de los Requisitos de Gestión de la NTC-ISO/IEC 17025

4. Requisitos de Gestión	Respuestas				Items evaluados
	SI	NO	DNI	NDI	
4.1. Organización	14	1	1	-	16
4.2. Sistema de Gestión de calidad	13	-	-	1	14
4.3. Control de documentos	6	4	1	1	12
4.4. Revisión de pedidos, ofertas y contratos	7	-	1	1	9
4.5 Subcontratación de ensayos y calibraciones (exclusión de la norma)	-	-	-	-	0
4.6. Compras de servicios y suministros	4	-	-	-	4
4.7. Servicio al cliente	1	1	1	-	3
4.8. Quejas	1	-	-	-	1
4.9. Control de trabajos de ensayo no conformes	6	-	-	-	6
4.10. Mejora	1	-	-	-	1
4.11. Acciones correctivas	4	-	1	-	5
4.12. Acciones preventivas	2	-	-	-	2
4.13. Control de registros	9	2	1	1	13
4.14. Auditorías internas	8	-	-	-	8
4.15. Revisión por la Dirección	4	-	-	-	4
TOTAL	80	8	6	4	98

Fuente: Esta investigación

Tabla 16. Evaluación de los Requisitos Técnicos de la NTC-ISO/IEC 17025

5. Requisitos Técnicos	Respuestas				Items evaluados
	SI	NO	DNI	NDI	
5.1. Generalidades	1	-	-	-	1
5.2. Personal	8	2	1	1	12
5.3. Instalaciones y condiciones ambientales	5	4	-	3	12
5.4 Métodos de ensayo y calibración y validación de los métodos (PARÁMETROS ACREDITADOS)	25	1	-	2	28
5.4 Métodos de ensayo y calibración y validación de los métodos (PARÁMETRO: FÓSFORO TOTAL)	0	28	-	-	28
5.5. Equipos	24	-	-	-	24
5.6. Trazabilidad de las mediciones	15	-	-	-	15
5.7. Muestreo	5	-	1	-	6
5.8. Manipulación de ítems de ensayo y calibración	8	1	-	-	9
5.9. Aseguramiento de la calidad de los resultados de ensayo y calibración	7	-	-	2	9
5.10. Informe de resultados	32	-	-	-	32
TOTAL	105	35	2	6	148

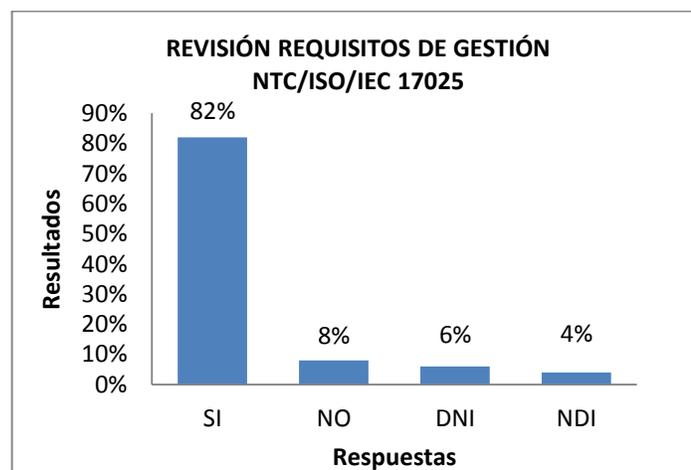
Fuente: Esta investigación

Aunque la evaluación de los requisitos establecidos en la NTC/ISO/IEC 17025:2005 se realizó tanto para los parámetros acreditados como para el parámetro de fósforo total, el análisis de estos datos, se realizó con respecto a este último parámetro, ya que es el objeto de estudio de este trabajo de grado. Según las tablas 15 y 16, el número total de ítems de la NTC-ISO/IEC 17025 evaluados fueron 246.

Con respecto al parámetro de fósforo total, en la tabla 15 para los Requisitos de Gestión el resultado obtenido fue de 80; si se habla en cuestión de porcentaje y teniendo en cuenta la gráfica 2, se evidenció el cumplimiento del 82% de estos requisitos. Lo anterior indica que el proceso para la implementación y el mantenimiento del sistema de gestión de calidad del laboratorio es satisfactorio.

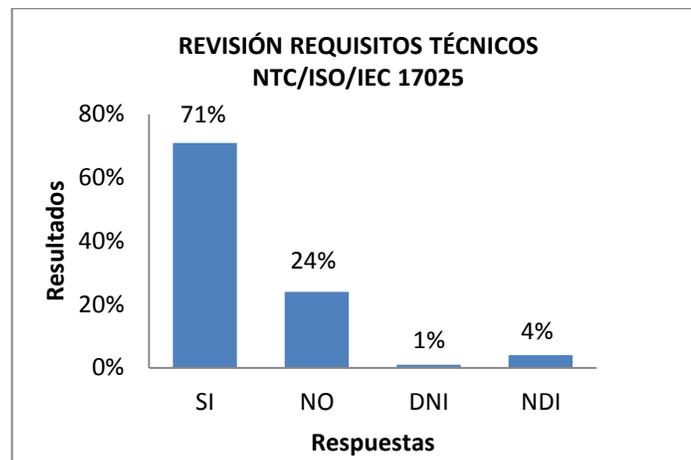
Así mismo, como se puede observar en la tabla 16, para los Requisitos Técnicos se obtuvo un puntaje de 105, el cual representa el 71% del cumplimiento (gráfica 3). Sin embargo de los 28 ítems evaluados en el numeral 5.4 de la norma que hace referencia a la validación de los métodos y a la estimación de la incertidumbre, para el parámetro de fósforo total ninguno se cumple, con lo cual se hizo evidente el incumplimiento de este numeral. Con esto, se demostró que el Laboratorio de Análisis Químico y Aguas no cuenta con la suficiente evidencia estadística en lo relacionado con el análisis de fósforo total en aguas y lixiviados, debido a que no se han realizado las validaciones correspondientes de los métodos analíticos usados para su determinación.

Gráfica 2. Resultados de la revisión con la Lista de verificación NTC-ISO/IEC 17025. Requisitos de Gestión - Parámetro de fósforo total



Fuente: Esta investigación

Gráfica 3. Resultados de la revisión con la Lista de verificación NTC-ISO/IEC 17025. Requisitos Técnicos - Parámetro de fósforo total



Fuente: Esta investigación

En cuanto a la estructura documental del sistema de gestión que soporta todas las actividades y procesos realizados por el Laboratorio de Análisis Químico y Aguas, se pudo observar con respecto al parámetro de fósforo total, que la mayor parte de los requisitos de gestión contemplados en la NTC-ISO/IEC 17025, se encuentra documentada. Esto se puede evidenciar teniendo en cuenta los porcentajes mostrados en la gráfica 2 que se obtuvieron como resultado de la aplicación de la auditoría, en donde se observa que el porcentaje de la convención SI es cercano al 100% (82% de cumplimiento), lo que indica que el requisito está documentado e implementado.

Por otra parte, no existe en el laboratorio la documentación relacionada con los requisitos técnicos (guías de análisis, instructivos de validación, registros, etc), en lo que respecta al parámetro fósforo total. Esto demostró el incumplimiento de esta parte de la NTC-ISO/IEC 17025.

De las revisiones efectuadas y de la información obtenida a partir de las entrevistas durante la ejecución de la auditoría, se elaboró y presentó el **INFORME AUDITORÍA INTERNA NTC-ISO/IEC 17025:2005**, en el cual se identificaron las fortalezas del laboratorio y hallazgos No conformes y Oportunidades de Mejora, cuyo levantamiento le permitirá al laboratorio el fortalecimiento del sistema implementado y el cumplimiento no solo de la norma objeto de evaluación, sino de sus procedimientos internos. El Anexo C muestra el informe de auditoría presentado.

De acuerdo con este informe, durante el desarrollo de la auditoría se identificaron muchas fortalezas, dentro de las cuales se destacan las siguientes:

- ❖ A pesar de contar con pocos recursos, el Laboratorio ha alcanzado muchos logros y ha seguido implementando actividades y programas para mantener y mejorar continuamente el Sistema de Gestión de Calidad. Sumado a esto, se destaca el trabajo y la gestión realizados por la Coordinadora de Calidad, en el diseño, desarrollo e implementación del Sistema de Gestión de Calidad en el Laboratorio de Análisis Químico y Aguas, aplicando la NTC-ISO/IEC 17025:2005.
- ❖ Se destaca la labor realizada por el personal encargado del Soporte Técnico y el mantenimiento de los equipos, pues cuentan con toda la documentación al día y es evidente el compromiso que ellos han adquirido con el cumplimiento de esta norma y con la garantía de calidad en las mediciones.
- ❖ La mayor parte de los requisitos tanto de gestión como técnicos de la NTC-ISO/IEC 17025 se encuentra documentada.

Según los hallazgos encontrados en la realización de la auditoría, 7 se clasificaron como No Conformes y 7 como Oportunidades de Mejora, para un total de 14. En la tabla 17 se indican los requisitos de gestión y técnicos incumplidos tanto para los parámetros acreditados como para el parámetro de fósforo total.

Tabla 17. Descripción de los numerales de la NTC-ISO-IEC 17025:2005 con los Hallazgos No Conformes y Oportunidades de Mejora durante la auditoría interna con respecto a los parámetros acreditados y fósforo total

Requisitos de la NTC-ISO/IEC 17025:2005		
Requisitos de Gestión	Requisitos específicos Incumplidos (No Conformidades)	Requisitos específicos a mejorar (Oportunidades de Mejora)
4.1. Organización		4.1.3
		4.1.4
4.1.5. Deberes del laboratorio	4.1.5.e	4.1.5.a
	4.1.5.j.	4.1.5.f
		4.1.5.i
4.2. Sistema de Gestión		4.2.6
4.3. Control de los documentos	4.3.1	
	4.3.2.2b	
4.4. Revisión de los pedidos, ofertas y contratos		4.4.1d
		4.4.2
4.7. Servicio al Cliente	4.7.2	4.7.1
4.11. Acciones Correctivas		4.11.4
4.13. Control de los registros	4.13.1.2	
	4.13.2.3	

Tabla 17. (Continuación)

Requisitos de la NTC-ISO/IEC 17025:2005		
Requisitos Técnicos	Requisitos específicos Incumplidos (No Conformidades)	Requisitos específicos a mejorar (Oportunidades de Mejora)
5.2. Personal	5.2.3	5.2.1
	5.2.5	5.2.5
5.3. Instalaciones y condiciones ambientales	5.3.2	
	5.3.3	
5.4. Métodos de ensayo y de calibración y validación de los métodos	5.4.5.2	
5.7. Muestreo		5.7.1
		5.7.2
5.8. Manipulación de los ítems de ensayo o de calibración	5.8.1	
5.9. Aseguramiento de la calidad de los resultados de ensayo y calibración		5.9.1
		5.9.2

Fuente: Esta investigación

✓ **Elaboración del Plan de Acción**

En el Anexo D se muestran todas las acciones que se tomaron a partir de los hallazgos encontrados como resultado de la auditoría interna realizada.

- Etapa 3. Seguimiento de la auditoría

Con el seguimiento a las acciones establecidas en el plan de acción, se pudo comprobar que hasta la fecha ya se ha dado cumplimiento a la totalidad de éstas, lo que demuestra el levantamiento a los hallazgos no conformes encontrados durante la auditoría interna, con lo cual se garantiza la eficacia de las mismas y se evidencia que se siguen tomando medidas para mantener el sistema de gestión de calidad del laboratorio, bajo una filosofía de mejoramiento continuo.

4.1.2. Mejoramiento continuo del Sistema de Gestión del Laboratorio.

La auditoría interna aplicada, fue una contribución importante que permitió realizar seguimiento al sistema de gestión de calidad implementado e identificar hallazgos que fueron resueltos de manera oportuna, dando el aval para programar la auditoría de re-acreditación del Laboratorio de Análisis Químico y Aguas de la Universidad de Nariño, por parte de la entidad competente para la evaluación de la

conformidad del laboratorio, el Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales, IDEAM, la cual se llevó a cabo los días 20, 21 y 22 de octubre de 2014. El Instituto se encargó de auditar todo el sistema de gestión con base en la NTC/ISO/IEC 17025:2005, con respecto a los parámetros acreditados. Los resultados de esta auditoría externa, presentados en el correspondiente informe de auditoría, se resumen en la siguiente tabla:

Tabla 18. Descripción de los numerales de la NTC-ISO-IEC 17025:2005 con los Hallazgos No Conformes encontrados durante la auditoría externa con respecto a los parámetros acreditados.

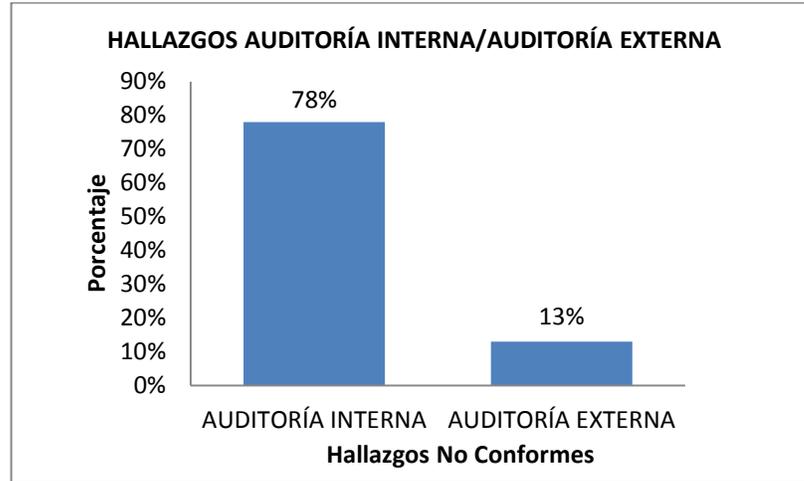
REQUISITOS NTC-ISO-IEC 17025:2005	
Requisitos de Gestión	Requisitos específicos Incumplidos (No Conformidades)
4.11. Acciones Correctivas	4.11.2.
	4.11.3.

Fuente: Esta investigación

En la gráfica 4 que se muestra a continuación, se observa que los hallazgos no conformes correspondientes al numeral 4 de la NTC/ISO/IEC 17025:2005 representan el 78% mientras que en la auditoría externa realizada por el IDEAM se redujeron al 13%. De esta manera se pudo demostrar que la contribución hecha por este trabajo en lo concerniente al mejoramiento continuo del sistema de gestión de calidad adoptado por el laboratorio, resultó efectiva y que la aplicación de la auditoría interna, fue un aporte importante en la búsqueda de la renovación de la acreditación del Laboratorio de Análisis Químico y Aguas, mediante Resolución 3566 del 11 de Diciembre de 2014,¹²³ una vez que el IDEAM evaluara el plan de acción elaborado y comprobará el levantamiento de las acciones establecidas en él.

¹²³ COLOMBIA. INSTITUTO DE HIDROLOGÍA, METEOROLOGÍA Y ESTUDIOS AMBIENTALES. Resolución No. 3566 (11, diciembre, 2014). Por la cual se renueva el alcance de la acreditación al Laboratorio de Análisis Químico y Aguas de la Universidad de Nariño, para producir información cuantitativa, física y química para los estudios o análisis ambientales requeridos por las autoridades ambientales competentes. Bogotá, D.C.: El Instituto, 2014. 7p.

Gráfica 4. Comparación de los hallazgos encontrados en las Auditorías Interna y Externa.



Fuente: Esta investigación

4.2. FASE 2. VALIDACIÓN DE LOS MÉTODOS ANALÍTICOS

A partir de los resultados obtenidos en la fase 1 que evidenciaron el incumplimiento del numeral 5.4 de la NTC-ISO/IEC 17025:2005 que incluye la validación de los métodos (5.4.5) y la estimación de la incertidumbre (5.4.6) para el parámetro de fósforo total, se procedió a realizar la validación de los métodos analíticos usados para su determinación y de esta manera dar cumplimiento a lo establecido en esta norma internacional.

4.2.1. Validación y comparación de los métodos analíticos: Método del Cloruro Estañoso y Método del Ácido Ascórbico

Para dar cumplimiento a la Fase 2 y con ello a los objetivos 3 y 4 del presente trabajo de grado, se muestran a continuación la identificación de las etapas críticas del proceso analítico, los resultados de la validación de los métodos analíticos y la comparación de los métodos validados para identificar si existen o no diferencias estadísticamente significativas entre ambos métodos analíticos.

4.2.1.1. Matriz AMEF para el análisis de Fósforo Total en aguas y Lixiviados

En el Anexo Ese muestra la Matriz AMEF que se elaboró para el análisis de Fósforo Total en aguas y Lixiviados mediante los métodos colorimétricos del Cloruro estañoso y del Ácido Ascórbico y a continuación se muestra la puntuación obtenida al modo de falla potencial detectado para cada una de las etapas del proceso.

Tabla 19. Puntaje Matriz AMEF para el análisis de Fósforo Total en aguas y Lixiviados

Descripción del proceso	Modo de falla potencial	Ocurrencia	Severidad	Detección	NPR
Etapas del proceso					
Cálculos previos	Mala determinación de la cantidad de KH_2PO_4 utilizada para la preparación de la solución patrón y de las soluciones para las curvas de calibración, así como también de los reactivos que se utilizan en la preparación de las demás soluciones	3	7	3	61
Preparación de las soluciones y diluciones	La balanza analítica en la cual se pesan los reactivos, no se encuentra calibrada	2	10	1	20
	Material de vidrio mal lavado	2	9	1	18
	Utilización de reactivos con los cuales se preparan las soluciones, en mal estado, vencidos o contaminados	2	9	1	18
	Aforo por encima o por debajo de la línea de aforo del balón aforado utilizado para preparar las soluciones	2	9	2	36
	Utilizar pipetas graduadas para las alícuotas de las soluciones y diluciones	2	8	1	16
	Aforo por encima o por debajo de la línea de aforo de las pipetas para las alícuotas	2	8	2	32
Pretratamiento de las muestras	La plancha de calentamiento no funciona adecuadamente o está dañada	8	10	7	560
	Detener el calentamiento de las muestras en un lapso de tiempo inferior o superior al establecido	2	10	1	20
	No controlar el pH de las muestras, una vez digeridas	2	10	1	20
Determinación espectrofotométrica de las muestras	Los equipos espectrofotométricos (Pharo 300 y Perkin Elmer Lambda 11), utilizados para realizar las lecturas de las muestras, no se encuentran calibrados	2	10	1	20
	No calentar las lámparas de los equipos mínimo 15 minutos.	1	9	1	9
	No adicionar el reactivo coloreador (Cloruro estañoso o Ácido ascórbico) a las muestras.	1	1	1	1
	Leer las muestras inmediatamente después de haber agregado el reactivo coloreador (Cloruro estañoso o Ácido ascórbico) o realizar las mediciones fuera del tiempo establecido (a los 10 minutos pero antes de los 30)	1	10	1	10
Resultados	Error en la transcripción de los resultados	2	7	1	14

Fuente: Esta investigación

Según la tabla 19, los resultados obtenidos en la elaboración de esta matriz, permitieron identificar que una de las etapas críticas de la metodología experimental es el pretratamiento de las muestras, el cual incluye la digestión ácida y el cambio de pH, puesto que se obtuvo el puntaje de NPR más alto, siendo de 600 puntos, lo que representa un riesgo moderado sobre el cual fue necesario establecer acciones que permitieran reducir ese riesgo de falla. Las acciones tomadas fueron las siguientes:

✓ Digestión ácida

Con respecto a la digestión ácida de las muestras, debido a que la plancha calefactora del Laboratorio de Análisis Químico y Aguas no calienta de manera uniforme y sólo presenta las opciones de “encendido” y “apagado”, no es posible conocer la temperatura a la cual opera y por esta razón se debe tener en cuenta el tiempo de digestión. De esta forma es necesario que después de agregar el ácido perclórico concentrado durante el proceso de digestión, las muestras se dejen en calentamiento al menos 1 hora más; esto con el fin de asegurar la completa oxidación del fósforo en las muestras.

✓ pH

No realizar el cambio de pH ácido a básico de las muestras, una vez digeridas, se convierte en una etapa crítica del proceso puesto que después de agregar los reactivos coloreadores (Cloruro estañoso o Ácido ascórbico), no es evidente el desarrollo del color de las muestras y por tanto no se pueden determinar espectrofotométricamente. La baja formación del complejo coloreado puede deberse a la formación de productos intermediarios resultantes de la oxidación del fósforo orgánico a ortofosfato que impiden el desarrollo del color.¹²⁴ Por esta razón para descomponer los productos intermediarios que se pueden formar durante el proceso de digestión, los cuales interfieren en el desarrollo del color de las muestras, después de la digestión ácida se hace necesaria la adición de NaOH 6N y posteriormente se adicionan unas gotas de una solución fuerte de ácido.

Por otra parte, se pudo evidenciar experimentalmente que para el caso del método colorimétrico del ácido ascórbico, la inestabilidad de este reactivo hizo que fuera necesario prepararlo al instante en el cual se hacía el análisis de las muestras; de lo contrario el desarrollo del color no se llevaba a cabo adecuadamente.

4.2.1.2. Validación y comparación de los métodos analíticos

Cada análisis se hizo simultáneamente usando los dos métodos colorimétricos (cloruro estañoso y ácido ascórbico) y las lecturas se hicieron de igual forma en dos equipos espectrofotométricos (Perkin Elmer Lambda 11 y Pharo 300).

Por otra parte, debido a que las diferentes operaciones realizadas en el Laboratorio de Análisis Químico y Aguas de la Universidad de Nariño en cuanto a la preparación de soluciones y de patrones, entre otros, que tienen un efecto directo sobre la realización de los ensayos, y, por lo tanto, influyen en el resultado analítico, fue necesario utilizar en todos los casos material volumétrico clase A/AS previamente verificado con el fin de minimizar el error debido al uso de los

¹²⁴ HUANG, Xiao-Lan, Op. cit. p. 341.

materiales. Los cálculos se realizaron y analizaron utilizando los programas Microsoft Excel 2010 y Statgraphics Centurion XVI, obteniéndose los siguientes resultados:

4.2.1.2.1. Linealidad

✓ Intervalo lineal

A continuación en las Tablas 20 y 21 se muestran los promedios de las absorbancias de las 14 determinaciones realizadas con cada método y equipo.

Tabla 20. Resultados obtenidos en el estudio de la linealidad para el Método colorimétrico del Cloruro Estañoso y determinados en los dos equipos espectrofotométricos (Pharo 300 y Perkin Elmer Lambda 11)

Concentración teórica (ppm)	Espectrofotómetro Pharo 300			Espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 11		
	Absorbancia Promedio	Desviación estándar	Límite de confianza (95%)	Absorbancia Promedio	Desviación estándar	Límite de confianza (95%)
0,10	0,079	0,01	±0,006	0,075	0,01	±0,005
0,20	0,150	0,02	±0,011	0,148	0,02	±0,010
0,40	0,308	0,04	±0,022	0,310	0,03	±0,017
0,50	0,376	0,06	±0,035	0,377	0,06	±0,033
0,60	0,427	0,03	±0,017	0,431	0,03	±0,017
0,80	0,593	0,02	±0,014	0,597	0,02	±0,015
1,00	0,693	0,03	±0,017	0,700	0,03	±0,017
1,20	0,830	0,04	±0,024	0,839	0,02	±0,014

Fuente: Esta investigación

Tabla 21. Resultados obtenidos en el estudio de la linealidad para el Método colorimétrico del Ácido Ascórbico y determinados en los dos equipos espectrofotométricos (Pharo 300 y Perkin Elmer Lambda 11)

Concentración teórica (ppm)	Espectrofotómetro Pharo 300			Espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 11		
	Absorbancia Promedio	Desviación estándar	Límite de confianza (95%)	Absorbancia Promedio	Desviación estándar	Límite de confianza (95%)
0,10	0,054	0,004	±0,002	0,052	0,004	±0,002
0,20	0,109	0,006	±0,003	0,108	0,005	±0,003
0,40	0,219	0,008	±0,005	0,220	0,015	±0,008
0,50	0,280	0,027	±0,015	0,273	0,028	±0,016
0,60	0,334	0,014	±0,008	0,331	0,014	±0,008
0,80	0,425	0,013	±0,008	0,425	0,011	±0,007
1,00	0,546	0,031	±0,018	0,539	0,059	±0,034
1,20	0,665	0,051	±0,030	0,659	0,051	±0,030

Fuente: Esta investigación

Los criterios de linealidad se evaluaron teniendo en cuenta lo mencionado en la sección 2.7.2.1; estos criterios son:

✓ **Criterio de aceptación 1: Coeficiente de correlación $r \geq 0.995$**

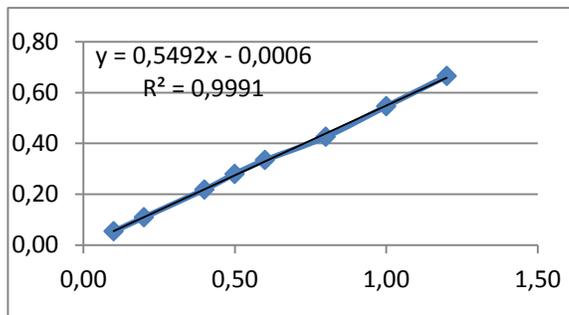
Los resultados relacionados con el análisis de regresión de la línea recta para cada método y equipo se muestran a continuación:

➤ **Regresión lineal**

Variable dependiente: Absorbancia

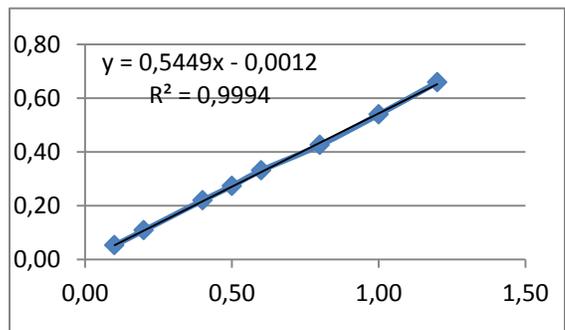
Variable independiente: Concentración

Gráfica 5. Curva de calibración Método colorimétrico del Ácido Ascórbico – Espectrofotómetro Pharo 300.



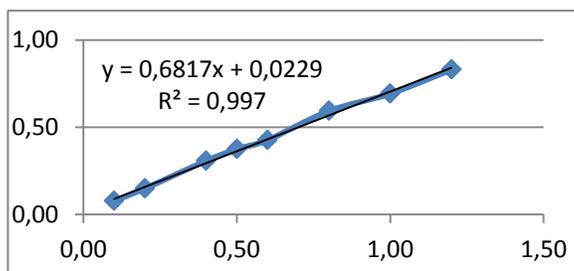
Absorbancia = -0,0006 + 0,54918 * Concentración
Ecuación 52

Gráfica 6. Curva de calibración Método colorimétrico del Ácido Ascórbico – Espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 11.



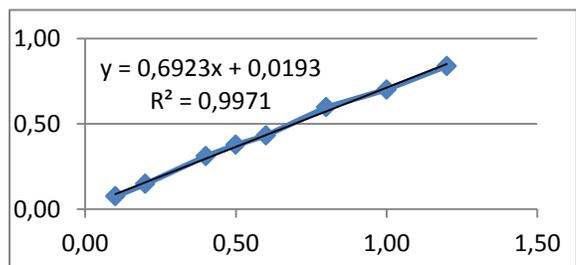
Absorbancia = -0,00119833 + 0,54487 * Concentración
Ecuación 53

Gráfica 7. Curva de calibración Método colorimétrico del Cloruro Estañoso – Espectrofotómetro Pharo 300.



Absorbancia = 0,0229209 + 0,68172 * Concentración
Ecuación 54

Gráfica 8. Curva de calibración Método colorimétrico del Cloruro Estañoso – Espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 11.



Absorbancia = 0,0193462 + 0,692327 * Concentración
Ecuación 55

Fuente: Esta investigación

Tabla 22. Parámetros estadísticos

	MÉTODO COLORIMÉTRICO DEL ÁCIDO ASCÓRBICO		MÉTODO COLORIMÉTRICO DEL CLORURO ESTAÑOSO	
	Espectrofotómetro Pharo 300	Espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 11	Espectrofotómetro Pharo 300	Espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 11
r	0,999526	0,999691	0,998493	0,99853
R. cuadrada	99,9052 %	99,9382 %	99,6989%	99,7063 %
Error estándar del estimado	0,00697365	0,00558662	0,0154466	0,0154929

Fuente: Esta investigación
r: Coeficiente de correlación

Los resultados mostrados en la tabla 22 indican que en el intervalo de concentración comprendido entre 0,1 mg/L y 1,2 mg/L de fósforo, se satisfacen las condiciones de linealidad del método analítico, ya que se cumplen los requerimientos de un coeficiente de correlación (r) mayor que 0,995 y de un coeficiente de determinación (r^2) mayor de 99,5 indicando una relación fuerte entre las variables dependiente e independiente, para cada método y equipo. Por tanto, se cumple con el criterio de aceptación 1 de la linealidad.

✓ **Criterio de aceptación 2: Cálculo de la correlación lineal significativa (tr)**

Aplicando la ecuación 2 se obtuvieron los valores de t_r para cada caso

$$t = \frac{|r|}{\frac{2\sqrt{1-r^2}}{\sqrt{n-2}}} \quad \text{Ecuación 2}$$

Donde r corresponde al coeficiente de correlación, r^2 es el coeficiente de determinación y el valor de t obtenido se compara con el t tabulado al nivel de significación deseado, usando una prueba t de dos colas y n-2 grados de libertad.

Grados de libertad: n= 8, entonces n-2 grados de libertad= 6

$T_{\text{Tabulado}}: T_{(6; 0,05)} = 2,45$

Tabla 23. Valores de la prueba estadística t

Método/Lectura	t_{exp}
Ácido ascórbico Espectrofotómetro Pharo 300	112,455
Ácido ascórbico Espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 11	139,303

Tabla 23.(Continuación)

Método/Lectura	t_{exp}
Cloruro Estañoso Espectrofotómetro Pharo 300	63,035
Cloruro Estañoso Espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 11	63,826

Fuente: Esta investigación

En la tabla 23 se observa que el valor experimental de t en cada caso es mayor al tabulado por lo que se rechaza la hipótesis nula de no correlación entre las variables “ x ” y “ y ”, y se concluye que existe evidencia suficiente para sustentar la afirmación de una correlación lineal entre las dos variables. Lo anterior indica que se cumple con el criterio de aceptación 2 de la linealidad.

✓ **Criterio de aceptación 3: Intercepto = 0**

Tabla 24. Resumen estadístico

Método/Lectura	Parámetro	Mínimos Cuadrados	Estándar	Estadístico	Valor-P
		Estimado	Error	T	
Ácido ascórbico Espectrofotómetro Pharo 300	Intercepto	-0,000587919	0,00482111	-0,121947	0,9069
	Pendiente	0,549185	0,00690494	79,5351	0,0000
Ácido ascórbico Espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 11	Intercepto	-0,00119833	0,00386221	-0,31027	0,7669
	Pendiente	0,54487	0,00553158	98,5017	0,0000
Cloruro Estañoso Espectrofotómetro Pharo 300	Intercepto	0,0229209	0,0106787	2,14641	0,0755
	Pendiente	0,68172	0,0152944	44,5732	0,0000
Cloruro Estañoso Espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 11	Intercepto	0,0193462	0,0107107	1,80624	0,1209
	Pendiente	0,692327	0,0153402	45,1315	0,0000

Fuente: Esta investigación

Los resultados mostrados en la tabla 24 indican que el valor de T calculado en cada caso es menor que el valor tabulado $T_{\text{Tabulado}}: T_{(6; 0,05)} = 2,45$ para un nivel de significancia del 95%, por lo que se acepta la hipótesis nula, se infiere que el intercepto no difiere significativamente de cero y que el método cumple con la condición de proporcionalidad correspondiente al criterio de aceptación 3 de la

linealidad. Este resultado indica desde el punto de vista teórico que el método cumple con la Ley de Lambert – Beer.

✓ **Criterio de aceptación 4: Análisis de varianza para verificar si existe o no relación lineal entre Absorbancia y Concentración.**

El estadístico de prueba F se utilizó para evaluar este criterio donde se plantea la hipótesis nula (H_0) de que no hay relación lineal entre las variables X y Y (Concentración y Absorbancia). Si $F_{Calculada} > F_{Tabulada}$, es decir si el valor P es menor que 0,05 se rechaza la hipótesis nula y se asume que existe una relación lineal entre dichas variables.

Tabla 25. Análisis de Varianza (ANOVA)

Lectura	Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Ácido ascórbico Espectrofotómetro Pharo 300	Modelo	0,307636	1	0,307636	6325,83	0,0000
	Residuo	0,000291791	6	0,0000486318		
	Total (Corr.)	0,307928	7			
Ácido ascórbico Espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 11	Modelo	0,302821	1	0,302821	9702,59	0,0000
	Residuo	0,000187262	6	0,0000312103		
	Total (Corr.)	0,303008	7			
Cloruro Estañoso Espectrofotómetro Pharo 300	Modelo	0,474038	1	0,474038	1986,77	0,0000
	Residuo	0,00143158	6	0,000238597		
	Total (Corr.)	0,475469	7			
Cloruro Estañoso Espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 11	Modelo	0,488903	1	0,488903	2036,85	0,0000
	Residuo	0,00144018	6	0,000240029		
	Total (Corr.)	0,490343	7			

Fuente: Esta investigación

Puesto que el valor-P en la tabla 25 es menor que 0,05 y el $F_{Calculado}$ es mayor que $F_{Tabulado (1; 6; 0,05)} = 5,987$ para todos los casos, se rechaza la hipótesis nula y se concluye que existe una relación lineal entre Absorbancia y Concentración con un nivel de significancia del 95% y para un contraste de una cola. Lo anterior permite concluir que existe una varianza muy baja debida a los residuos ya que los valores obtenidos experimentalmente se encuentran muy cercanos a los valores de “Y” pronosticados por la ecuación de regresión; además, la suma de cuadrados de residuales serán mucho menores que la de regresión y que la suma de cuadrados totales, y por lo tanto el valor de r^2 será próximo a 1.

Con base en los resultados obtenidos a partir de la evaluación de los cuatro criterios de aceptación de la linealidad, se concluye que los métodos

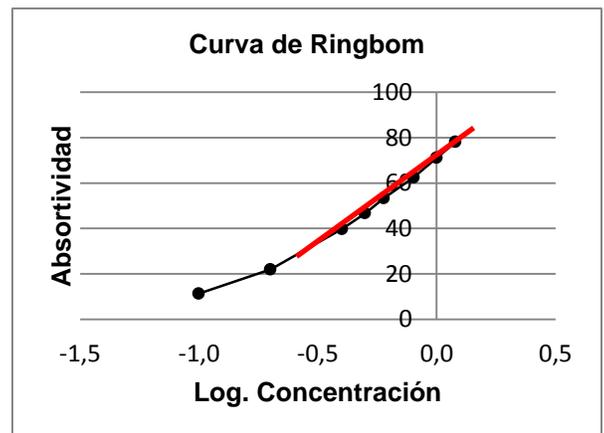
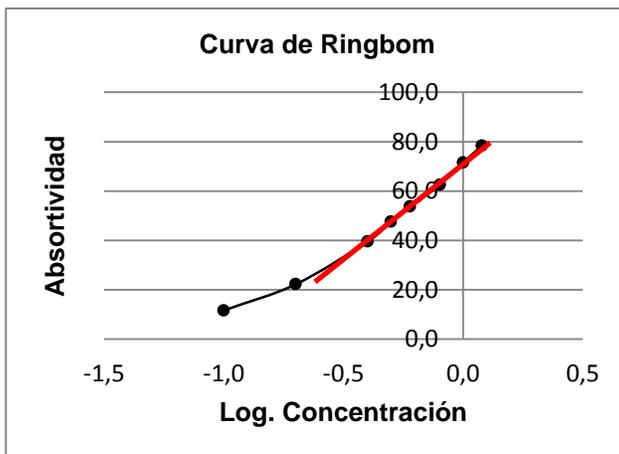
colorimétricos del cloruro estañoso y del ácido ascórbico son lineales entre el intervalo de concentraciones evaluado comprendido entre 0,1y 1,2 mg de P/L; por tanto la medición de fósforo total en las muestras de agua y de lixiviados realizada dentro de la curva de calibración es confiable. Consecuentemente si se quieren analizar muestras de mayor concentración es preciso realizar diluciones.

Sin embargo al comparar los resultados obtenidos en la evaluación de la linealidad de cada método colorimétrico, se encontró que el método que presenta mayor linealidad es el del ácido ascórbico debido a que en los resultados obtenidos a partir de los criterios de aceptación 2 y 4, se pudo observar que los valores de T calculado y de F calculado respectivamente, son más altos para dicho método, lo que indica que los valores de r^2 son más cercanos a 1 demostrándose una fuerte correlación lineal entre las dos variables y por tanto se pudo concluir que éste método presenta una mejor relación lineal.

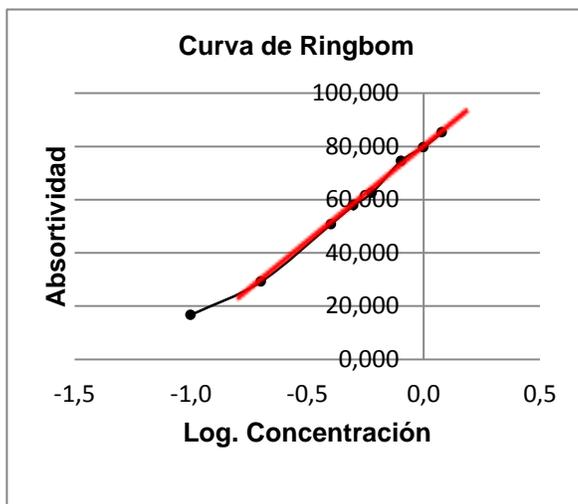
✓ Curva de Ringbom

Gráfica 9. Curva de Ringbom Método colorimétrico del Ácido Ascórbico – Espectrofotómetro Pharo 300.

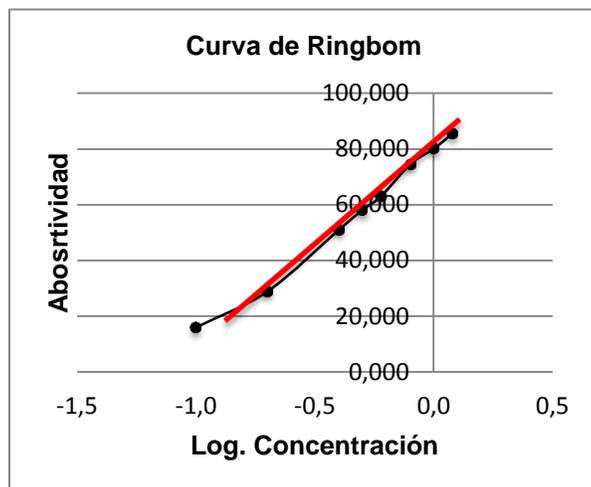
Gráfica 10. Curva de Ringbom Método colorimétrico del Ácido Ascórbico – Espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 11.



Gráfica 11. Curva de Ringbom Método colorimétrico del Cloruro Estañoso – Espectrofotómetro Pharo 300.



Gráfica 12. Curva de Ringbom Método colorimétrico del Cloruro Estañoso – Espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 11.



Fuente: Esta investigación

A partir de las curvas de Ringbom se determinó visualmente el intervalo lineal, concluyendo que para el caso del método colorimétrico del ácido ascórbico éste se encuentra entre 0,4 y 1,2 ppm de fósforo mientras que para el método colorimétrico del cloruro estañoso el intervalo lineal se encuentra entre 0,2 y 1,2ppm de fósforo, por tal motivo a continuación se muestran los resultados de la evaluación de la linealidad en los intervalos de concentraciones mencionados para cada método colorimétrico.

✓ **Criterio de aceptación 1: Coeficiente de correlación $r \geq 0.995$**

➤ **Regresión lineal**

Variable dependiente: Absorbancia

Variable independiente: Concentración

Tabla 26. Parámetros estadísticos

	MÉTODO COLORIMÉTRICO DEL ÁCIDO ASCÓRBICO		MÉTODO COLORIMÉTRICO DEL CLORURO ESTAÑOSO	
	Espectrofotómetro Pharo 300	Espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 11	Espectrofotómetro Pharo 300	Espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 11
r	0,99895	0,999306	0,998215	0,998309
R. cuadrada	99,7901 %	99,8613 %	99,6432 %	99,6622 %
Error estándar del estimado	0,00865873	0,00696508	0,0154077	0,0152203

r: Coeficiente de correlación

Al comparar los resultados de los coeficientes de correlación y de determinación mostrados en la tabla 22 con los de la tabla 26, se observa que en ambos intervalos de concentración para cada método y equipo se cumple con el criterio de aceptación 1; sin embargo los resultados obtenidos son mejores en el intervalo comprendido entre 0,1 y 1,2 mg de P/L, debido a que los coeficientes de correlación y de determinación son más altos.

✓ **Criterio de aceptación 2: Cálculo de la correlación lineal significativa (tr)**

Aplicando la ecuación 2 se obtuvieron los valores de t_r para cada caso.

Tabla 27. Valores de la prueba estadística t

Método/Lectura	t_{exp}	$T_{Tabulado}$
Ácido ascórbico Espectrofotómetro Pharo 300	43,61	$T_{(4; 0,05)}= 2,78$
Ácido ascórbico Espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 11	53,66	$T_{(4; 0,05)}= 2,78$
Cloruro Estañoso Espectrofotómetro Pharo 300	33,42	$T_{(5; 0,05)}= 2,57$
Cloruro Estañoso Espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 11	34,35	$T_{(5; 0,05)}= 2,57$

Fuente: Esta investigación

Al comparar los resultados mostrados en la tabla 23 con los de la tabla 27, se observa que en ambos intervalos de concentración para cada método y equipo se cumple con el criterio de aceptación 2, puesto que en cada caso los valores de T calculado son mayores que los valores tabulados de T; sin embargo los resultados obtenidos son mejores en el intervalo comprendido entre 0,1 y 1,2 mg de P/L, debido a que los valores de T calculado son más altos que los encontrados en el intervalo de 0,4 – 1,2 mg de P/L para el método del ácido ascórbico y para en el intervalo de 0,2 – 1,2 mg de P/L.

✓ **Criterio de aceptación 3: Intercepto = 0**

Tabla 28. Resumen estadístico

Método/Lectura	Parámetro	Mínimos Cuadrados	Estándar	Estadístico	Valor-P
		Estimado	Error	T	
Ácido ascórbico Espectrofotómetro Pharo 300	Intercepto	0,000578947	0,0100638	0,0575277	0,9569
	Pendiente	0,547895	0,0125634	43,6103	0,0000
Ácido ascórbico Espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 11	Intercepto	0,00101754	0,00809532	0,125695	0,9060
	Pendiente	0,542421	0,010106	53,6732	0,0000
Cloruro Estañoso Espectrofotómetro Pharo 300	Intercepto	0,0312782	0,0134039	2,33351	0,0669
	Pendiente	0,671926	0,0179807	37,3693	0,0000
Cloruro Estañoso Espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 11	Intercepto	0,0279786	0,0132409	2,11305	0,0883
	Pendiente	0,68216	0,017762	38,4056	0,0000

Fuente: Esta investigación

Los resultados mostrados en la tabla 28 indican que el valor de T calculado es menor que el valor tabulado T_{Tabulado} , $T_{(4; 0,05)} = 2,78$ para el caso del ácido ascórbico y $T_{(5; 0,05)} = 2,57$ para el caso del cloruro estañoso, para un nivel de significancia del 95%, por lo que se acepta la hipótesis nula; por tanto se concluye que el intercepto no difiere significativamente de cero y que el método cumple con la condición de proporcionalidad correspondiente al criterio de aceptación 3 de la linealidad.

Sin embargo los resultados obtenidos son mejores en el intervalo comprendido entre 0,1 y 1,2 mg de P/L, debido a que los valores de T calculado son más bajos que los encontrados en el intervalo de 0,4 – 1,2 mg de P/L para el método del ácido ascórbico y los encontrados en el intervalo de 0,2 – 1,2 mg de P/L, para el método del cloruro estañoso.

- ✓ **Criterio de aceptación 4: Análisis de varianza para verificar si existe o no relación lineal entre Absorbancia y Concentración.**

Tabla 29. Análisis de Varianza (ANOVA)

Lectura	Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Ácido ascórbico Espectrofotómetro Pharo 300	Modelo	0,14259	1	0,14259	1901,86	0,0000
	Residuo	0,000299895	4	0,0000749737		
	Total (Corr.)	0,14289	5			
Ácido ascórbico Espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 11	Modelo	0,139755	1	0,139755	2880,81	0,0000
	Residuo	0,000194049	4	0,0000485123		
	Total (Corr.)	0,139949	5			
Cloruro Estañoso Espectrofotómetro Pharo 300	Modelo	0,331519	1	0,331519	1396,47	0,0000
	Residuo	0,00118699	5	0,000237398		
	Total (Corr.)	0,332706	6			
Cloruro Estañoso Espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 11	Modelo	0,341694	1	0,341694	1474,99	0,0000
	Residuo	0,00115829	5	0,000231658		
	Total (Corr.)	0,342852	6			

Fuente: Esta investigación

Como se puede observar en la tabla 29, el valor de P es menor que 0,05 y el $F_{\text{Calculado}}$ es mayor que $F_{\text{Tabulado}}(1; 4; 0,05) = 7,708$ (para el caso del ácido ascórbico) y $F_{\text{Tabulado}}(1; 5; 0,05) = 6,607$ (para el caso del cloruro estañoso); por tal razón no se rechaza la hipótesis nula y se concluye que existe una relación lineal entre las variables estudiadas, con un nivel de significancia del 95% y para un contraste de una cola.

Al comparar los resultados obtenidos en la tabla 29 con los obtenidos en la tabla 25, se pudo notar que la relación lineal es mejor en el intervalo comprendido entre 0,1 y 1,2 ppm de fósforo debido a que los valores calculados de F son más altos que los obtenidos en el intervalo de 0,4 – 1,2 mg de P/L para el método del ácido ascórbico y los encontrados en el intervalo de 0,2 – 1,2 mg de P/L para el método del cloruro estañoso.

Con la comparación realizada, se demostró estadísticamente que para ambos métodos colorimétricos el intervalo lineal óptimo corresponde a 0,1 y 1,2 ppm de fósforo.

4.2.1.2.2. Sensibilidad

Para la evaluación de la sensibilidad a partir del estadístico T es necesario calcular el error estimado de la pendiente el cual se debe tanto al hecho de que cada dato es incierto (por las limitaciones propias del proceso de medida) como al hecho de que se trata de una estimación estadística. Para que fuera exacto sería necesario reunir infinitos datos.

A partir de los resultados obtenidos mediante el análisis ANOVA realizado con el programa Statgraphics Centurion XVI también se obtiene el estadístico “T” para la pendiente (m); los resultados se muestran en la tabla 24.

Criterio de aceptación 1. Prueba de hipótesis para la pendiente.

Para la evaluación de los valores obtenidos, se conoce que el T_{Tabulado} para un nivel de significación del 95% a dos colas y n-2 grados de libertad es $T_{(6; 0,05)} = 2,45$ y que al compararlo con los valores de $T_{\text{Calculado}}$ para la pendiente presentados en la tabla 24, se observa que $T_{\text{Calculado}} > T_{\text{Tabulado}}$ para todos los casos, por lo tanto para el nivel de significación del 95%, se rechaza la hipótesis nula y se concluye que la pendiente difiere significativamente de cero.

Criterio de aceptación 2. Relación promedio Y/X cercana al valor de la pendiente de la curva de calibración.

Tabla 30. Valores de los factores de respuesta y de la pendiente para los métodos colorimétricos del Cloruro estañoso y del Ácido ascórbico.

	M1 E1	M1 E2	M2 E1	M2 E2
Promedio de los factores de respuesta (Y/X)	0,547063731	0,54039894	0,73742264	0,73592434
Pendiente (m)	0,5492	0,5449	0,6817	0,6923

Fuente: Esta investigación

M1 E1: Método del Ácido ascórbico – Espectrofotómetro Pharo 300.

M1 E2: Método del Ácido ascórbico – Espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 11.

M2 E1: Método del Cloruro Estañoso – Espectrofotómetro Pharo 300.

M2 E2: Método del Cloruro Estañoso – Espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 11.

Al comparar los resultados de la tabla 24 se encuentra que los valores de $T_{\text{Calculado}}$ de las pendientes para el método del ácido ascórbico son mayores que los del método del cloruro estañoso, lo que indica que el método colorimétrico del ácido ascórbico presenta mayor sensibilidad. Esto se fundamenta también en el hecho de que los promedios de los factores de respuesta mostrados en la tabla 30 son

más cercanos al valor de la pendiente para el método colorimétrico del ácido ascórbico.

En conclusión el método del ácido ascórbico presenta una mayor sensibilidad que el del cloruro estañoso, presenta de igual forma una mejor linealidad en el intervalo correspondiente a 0,1 y 1,2 ppm de fósforo.

4.2.1.2.3. Límite de Detección (LOD) y Límite de Cuantificación (LOQ)

Los resultados obtenidos de las lecturas de las absorbancias de los blancos con agua tipo 2 y de los blancos de las matrices de referencia de Agua Cruda, de Agua Residual y de Lixiviados, en los equipos espectrofotométricos Pharo 300 y Perkin Elmer Lambda 11, para los métodos colorimétricos del Cloruro Estañoso y del Ácido Ascórbico, se muestran a continuación:

Tabla 31. Lectura de las absorbancias de los blancos con agua tipo 2 realizadas durante cinco días – Método colorimétrico: Cloruro Estañoso y Equipos espectrofotométricos: Pharo 300 y Perkin Elmer Lambda 11.

Número de determinación	Espectrofotómetro Pharo 300					Espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 11				
	Absorbancias					Absorbancias				
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5
1	0,040	0,038	0,040	0,039	0,040	0,043	0,042	0,042	0,041	0,043
2	0,040	0,040	0,039	0,039	0,039	0,043	0,042	0,042	0,042	0,042
3	0,038	0,039	0,038	0,040	0,040	0,042	0,042	0,042	0,043	0,042
4	0,040	0,041	0,039	0,039	0,040	0,043	0,042	0,043	0,042	0,042
5	0,040	0,041	0,038	0,040	0,040	0,043	0,043	0,042	0,041	0,042
6	0,039	0,040	0,039	0,039	0,040	0,042	0,042	0,041	0,042	0,041
7	0,040	0,040	0,040	0,039	0,040	0,041	0,042	0,041	0,042	0,041
8	0,040	0,040	0,039	0,040	0,040	0,041	0,043	0,042	0,041	0,041
9	0,040	0,038	0,040	0,040	0,040	0,041	0,041	0,041	0,044	0,041
10	0,038	0,039	0,040	0,040	0,038	0,042	0,041	0,042	0,042	0,042
Promedio	0,040					0,042				
Desviación estándar	0,0008					0,0008				
Límite de confianza (95%)	±0,00022					±0,00021				

Fuente: Esta investigación

Tabla 32. Lectura de las absorbancias de los blancos con agua tipo 2 realizadas durante cinco días – Método colorimétrico: Ácido Ascórbico y Equipos espectrofotométricos: Pharo 300 y Perkin Elmer Lambda 11.

Número de determinación	Espectrofotómetro Pharo 300					Espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 11				
	Absorbancias					Absorbancias				
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5
1	0,061	0,061	0,061	0,060	0,060	0,062	0,062	0,061	0,063	0,061
2	0,062	0,060	0,060	0,062	0,061	0,061	0,062	0,060	0,062	0,062
3	0,062	0,062	0,060	0,061	0,061	0,062	0,064	0,062	0,061	0,061
4	0,062	0,060	0,060	0,059	0,062	0,061	0,063	0,060	0,061	0,061
5	0,062	0,060	0,060	0,062	0,061	0,061	0,062	0,063	0,061	0,061
6	0,059	0,059	0,060	0,062	0,060	0,061	0,063	0,063	0,061	0,061
7	0,058	0,058	0,060	0,062	0,058	0,063	0,063	0,063	0,063	0,062
8	0,060	0,060	0,058	0,060	0,060	0,063	0,061	0,062	0,060	0,060
9	0,060	0,061	0,060	0,061	0,060	0,061	0,060	0,060	0,061	0,060
10	0,061	0,060	0,058	0,060	0,060	0,061	0,061	0,060	0,063	0,063
Promedio	0,060					0,062				
Desviación estándar	0,0012					0,0011				
Límite de confianza (95%)	±0,00005					±0,00030				

Fuente: Esta investigación

Tabla 33. Lectura de las absorbancias medidas a partir de los blancos de referencia de Agua Cruda, de Agua Residual y de Lixiviados - Método colorimétrico: Cloruro Estañoso y Equipos espectrofotométricos: Pharo 300 y Perkin Elmer Lambda 11.

Número de determinación	Espectrofotómetro Pharo 300			Espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 11		
	Absorbancias			Absorbancias		
	Blanco de referencia Agua Cruda	Blanco de referencia Agua Residual	Blanco de referencia Lixiviado	Blanco de referencia Agua Cruda	Blanco de referencia Agua Residual	Blanco de referencia Lixiviado
1	0,038	0,040	0,041	0,042	0,043	0,041
2	0,039	0,039	0,040	0,043	0,042	0,041
3	0,040	0,039	0,040	0,044	0,042	0,043
4	0,041	0,040	0,039	0,042	0,043	0,042
5	0,040	0,038	0,038	0,042	0,041	0,044
6	0,040	0,040	0,040	0,044	0,044	0,042
7	0,039	0,041	0,040	0,042	0,043	0,043

Tabla 33.(Continuación)

Número de determinación	Espectrofotómetro Pharo 300			Espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 11		
	Absorbancias			Absorbancias		
	Blanco de referencia Agua Cruda	Blanco de referencia Agua Residual	Blanco de referencia Lixiviado	Blanco de referencia Agua Cruda	Blanco de referencia Agua Residual	Blanco de referencia Lixiviado
8	0,041	0,039	0,041	0,042	0,042	0,043
9	0,039	0,040	0,040	0,042	0,043	0,041
10	0,038	0,040	0,040	0,041	0,041	0,041
Promedio	0,03950	0,03960	0,03990	0,04240	0,04240	0,04210
Desviación estándar	0,0011	0,0008	0,0009	0,0010	0,0010	0,0011
LC 95%	±0,0008	±0,001	±0,001	±0,001	±0,001	±0,001

Fuente: Esta investigación

Tabla 34. Lectura de las absorbancias medidas a partir de los blancos de referencia de Agua Cruda, de Agua Residual y de Lixiviados - Método colorimétrico: Ácido Ascórbico y Equipos espectrofotométricos: Pharo 300 y Perkin Elmer Lambda 11.

Número de determinación	Espectrofotómetro Pharo 300			Espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 11		
	Absorbancias			Absorbancias		
	Blanco de referencia Agua Cruda	Blanco de referencia Agua Residual	Blanco de referencia Lixiviado	Blanco de referencia Agua Cruda	Blanco de referencia Agua Residual	Blanco de referencia Lixiviado
1	0,061	0,061	0,060	0,060	0,062	0,062
2	0,061	0,061	0,061	0,061	0,062	0,063
3	0,060	0,058	0,060	0,063	0,064	0,062
4	0,061	0,062	0,058	0,061	0,062	0,064
5	0,058	0,060	0,062	0,061	0,062	0,060
6	0,060	0,060	0,061	0,062	0,062	0,060
7	0,060	0,058	0,060	0,061	0,063	0,063
8	0,058	0,060	0,058	0,063	0,060	0,061
9	0,060	0,062	0,060	0,064	0,060	0,062
10	0,061	0,060	0,061	0,060	0,063	0,061
Promedio	0,06000	0,06020	0,06010	0,06160	0,06200	0,06180
Desviación estándar	0,0012	0,0014	0,0013	0,0013	0,0012	0,0013
LC 95%	±0,001	±0,001	±0,001	±0,001	±0,001	±0,001

Fuente: Esta investigación

- **Comparación estadística de las señales emitidas por el blanco preparado con agua tipo 2 y los blancos de referencia de agua cruda, de agua residual y de lixiviados**

Se compararon las señales emitidas por los blancos preparados con agua tipo 2 con las señales de los blancos de referencia de agua cruda, de agua residual y de lixiviado, para cada método y equipo, con el fin de identificar si existen o no diferencias estadísticamente significativas entre éstas, para lo cual se realizó un análisis de varianza ANOVA mediante la opción comparación de varias muestras del programa Statgraphics Centurion XVI. En total se procesaron 80 datos para cada caso (método y equipo), de los cuales 50 corresponden a los obtenidos a partir de las lecturas de absorbancia de los blancos de agua tipo 2 y 30 correspondientes a los blancos de las matrices de referencia preparadas (10 de agua cruda, 10 de agua residual y 10 de lixiviado).

Tabla 35. Variables evaluadas para el ANOVA

Número	Variable
1	Blanco preparado con agua tipo 2
2	Blanco de referencia de agua cruda
3	Blanco de referencia de agua residual
4	Blanco de referencia de lixiviado

Fuente: Esta investigación

Tabla 36. Comparación de las señales emitidas por el blanco preparado con agua tipo 2 y los blancos de referencia de agua cruda, de agua residual y de lixiviados

Método / Equipo	ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA)					
	Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Ácido ascórbico / Equipo Pharo 300	Entre grupos	0,00000128	3	4,26667E-7	0,29	0,8323
	Intra grupos	0,00011172	76	0,00000147		
	Total (Corr.)	0,000113	79			
Ácido ascórbico / Equipo Perkin Elmer Lambda 11	Entre grupos	0,0000017075	3	5,69167E-7	0,42	0,7426
	Intra grupos	0,00010418	76	0,0000013708		
	Total (Corr.)	0,000105888	79			

Tabla 36.(Continuación)

Método / Equipo	ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA)					
	Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Cloruro estañoso / Equipo Pharo 300	Entre grupos	0,0000014875	3	4,958E-7	0,73	0,5395
	Intra grupos	0,0000519	76	6,829E-7		
	Total (Corr.)	0,0000533875	79			
Cloruro estañoso / Equipo Perkin Elmer Lambda 11	Entre grupos	0,0000033075	3	0,0000011025	1,51	0,2179
	Intra grupos	0,00005538	76	7,28684E-7		
	Total (Corr.)	0,0000586875	79			

Fuente: Esta investigación

En la tabla 36 se observa que el resultado del valor-P el cual es mayor que 0,05 en todos los casos y teniendo en cuenta que el $F_{\text{Calculado}}$ es menor que el $F_{\text{Tabulado}(3; 76; 0,05)} = 2,720$, con grados de libertad para el numerador $gl_1=3$ y el denominador $gl_2=76$ y para un contraste de una cola, se concluye que se acepta la hipótesis nula en donde las medias de las cuatro variables evaluadas no presentan diferencias estadísticamente significativas con un nivel de confianza del 95%; lo cual permitiría predecir que el efecto matriz no es significativo.

✓ **Cálculo de los LOD y LOQ**

Con los resultados de las tablas 31, 32, 33 y 34 se calcularon los límites de detección y de cuantificación utilizando los métodos mencionados en la sección 2.7.2.3.Límite de Detección (LOD) y de Cuantificación (LOQ).

✓ **Cálculo del LOD y LOQ mediante el método 1: relación señal / ruido**

Los cálculos del LOD y LOQ se realizaron utilizando los dos tipos de blancos, los que se prepararon con agua tipo 2 y los blancos de referencia (de agua cruda, de agua residual y de lixiviados).

➤ **Cálculo de la señal mínima aplicando la ecuación 5 con k=3 y k=10**

Tabla 37. Señal mínima

Método 1. RELACIÓN SEÑAL/RUIDO				
K=3				
Señal mínima para los Límite de detección LOD				
Variables	M1 E1	M1 E2	M2 E1	M2 E2
Agua tipo 2	0,064	0,065	0,042	0,044
Matriz de referencia AC	0,063	0,066	0,043	0,045
Matriz de referencia AR	0,064	0,066	0,042	0,045
Matriz de referencia L	0,064	0,066	0,043	0,045
K=10				
Señal mínima para los Límites de cuantificaciónLOQ				
Variables	M1 E1	M1 E2	M2 E1	M2 E2
Agua tipo 2	0,072	0,072	0,047	0,049
Matriz de referencia AC	0,072	0,075	0,050	0,052
Matriz de referencia AR	0,074	0,074	0,048	0,052
Matriz de referencia L	0,073	0,075	0,049	0,053

Fuente: Esta investigación

M1 E1: Método del Ácido ascórbico – Espectrofotómetro Pharo 300.

M1 E2: Método del Ácido ascórbico – Espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 11.

M2 E1: Método del Cloruro Estañoso – Espectrofotómetro Pharo 300.

M2 E2: Método del Cloruro Estañoso – Espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 11.

AC: Agua cruda

AR: Agua residual

L: Lixiviado

Con los resultados de la señal mínima se calcularon los LOD y LOQ utilizando las ecuaciones 52, 53, 54 y 55, obtenidas a partir de la regresión lineal para cada método y equipo, los resultados se muestran a continuación:

Tabla 38. Límites de detección (LOD) y Límites de cuantificación (LOQ) según el método 1.

Variables	LOD			
	LOD M1 E1 (ppm)	LOD M1 E2 (ppm)	LOD M2 E1 (ppm)	LOD M2 E2 (ppm)
Agua tipo 2	0,117	0,121	0,028	0,036
Matriz de referencia AC	0,117	0,123	0,029	0,037
Matriz de referencia AR	0,118	0,123	0,028	0,037
Matriz de referencia L	0,118	0,123	0,029	0,038

Tabla 38.(Continuación)

	LOQ			
	LOQ M1 E1 (ppm)	LOQ M1 E2 (ppm)	LOQ M2 E1 (ppm)	LOQ M2 E2 (ppm)
Agua tipo 2	0,132	0,134	0,036	0,043
Matriz de referencia AC	0,131	0,140	0,040	0,047
Matriz de referencia AR	0,136	0,139	0,037	0,047
Matriz de referencia L	0,134	0,140	0,038	0,049

Fuente: Esta investigación

LOD M1 E1: Límite de detección - Método del Ácido ascórbico – Espectrofotómetro Pharo 300.

LOD M1 E2: Límite de detección - Método del Ácido ascórbico – Espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 11.

LOD M2 E1: Límite de detección - Método del Cloruro Estañoso – Espectrofotómetro Pharo 300.

LOD M2 E2: Límite de detección - Método del Cloruro Estañoso – Espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 11.

AC: Agua cruda

AR: Agua residual

L: Lixiviado

✓ **Cálculo del LOD y LOQ utilizando el método 2**

Como se mencionó en la sección 2.7.2.3, el método 2 se puede determinar de dos formas: 1. Basado en la en la curva de calibración y 2. Basado en la desviación estándar del blanco, a continuación se muestran los resultados para cada caso.

✓ **Cálculo del LOD y LOQ utilizando el método 2 basado en la curva de calibración**

Los cálculos del LOD y LOQ se realizaron utilizando los dos tipos de blancos, los que se prepararon con agua tipo 2 y los blancos de referencia (de agua cruda, de agua residual y de lixiviados). Los LOD y LOQ se determinaron utilizando las ecuaciones 6 y 7; en este caso σ corresponde a la desviación estándar de los residuos determinada a partir de la regresión lineal, cuyo valor para cada método y equipo se muestra en la tabla 22y m corresponde a la pendiente de la curva de calibración.

Tabla 39. Límites de detección (LOD) y Límites de cuantificación (LOQ) según el método 2 basado en la curva de calibración

Método 2: Basado en la en la curva de calibración	Variables	LOD M1 E1 (ppm)	LOD M1 E2 (ppm)	LOD M2 E1 (ppm)	LOD M2 E2 (ppm)
	Agua tipo 2	0,042	0,034	0,075	0,074
	Matriz de referencia AC				
	Matriz de referencia AR				
	Matriz de referencia L				
Variables	LOQ M1 E1 (ppm)	LOQ M1 E2 (ppm)	LOQ M2 E1 (ppm)	LOQ M2 E2 (ppm)	
Agua tipo 2	0,127	0,103	0,227	0,224	
Matriz de referencia AC					
Matriz de referencia AR					
Matriz de referencia L					

Fuente: Esta investigación

LOD M1 E1: Límite de detección - Método del Ácido ascórbico – Espectrofotómetro Pharo 300.

LOD M1 E2: Límite de detección - Método del Ácido ascórbico – Espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 11.

LOD M2 E1: Límite de detección - Método del Cloruro Estañoso – Espectrofotómetro Pharo 300.

LOD M2 E2: Límite de detección - Método del Cloruro Estañoso – Espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 11.

AC: Agua cruda

AR: Agua residual

L: Lixiviado

✓ **Cálculo del LOD y LOQ utilizando el método 2 basado en la desviación estándar del blanco**

Los cálculos del LOD y LOQ se realizaron utilizando los dos tipos de blancos, los que se prepararon con agua tipo 2 y los blancos de referencia (de agua cruda, de agua residual y de lixiviados). Los LOD y LOQ se determinan utilizando las ecuaciones 6 y 7; en este caso σ corresponde a la desviación estándar desviación estándar de la señal del blanco y m corresponde a la pendiente de la curva de calibración.

Tabla 40. Límite de detección (LOD) y Límites de cuantificación (LOQ) según el método 2 basado en la desviación estándar del blanco.

Método 2: Basado en la desviación estándar del blanco	Variables	LOD M1 E1 (ppm)	LOD M1 E2 (ppm)	LOD M2 E1 (ppm)	LOD M2 E2 (ppm)
	Agua tipo 2	0,007	0,007	0,004	0,004
	Matriz de referencia AC	0,007	0,008	0,005	0,005
	Matriz de referencia AR	0,008	0,008	0,004	0,005
	Matriz de referencia L	0,008	0,008	0,004	0,005
	Variables	LOQ M1 E1 (ppm)	LOQ M1 E2 (ppm)	LOQ M2 E1 (ppm)	LOQ M2 E2 (ppm)
	Agua tipo 2	0,021	0,020	0,012	0,011
	Matriz de referencia AC	0,021	0,025	0,016	0,014
	Matriz de referencia AR	0,025	0,023	0,012	0,014
	Matriz de referencia L	0,023	0,024	0,013	0,015

Fuente: Esta investigación

LOD M1 E1: Límite de detección - Método del Ácido ascórbico – Espectrofotómetro Pharo 300.

LOD M1 E2: Límite de detección - Método del Ácido ascórbico – Espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 11.

LOD M2 E1: Límite de detección - Método del Cloruro Estañoso – Espectrofotómetro Pharo 300.

LOD M2 E2: Límite de detección - Método del Cloruro Estañoso – Espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 11.

AC: Agua cruda

AR: Agua residual

L: Lixiviado

A partir de los resultados obtenidos en los LOD y LOQ se pudo apreciar que según el método utilizado para su determinación, los valores que se obtienen son diferentes, por esta razón es preciso determinar el LOQ estimado para establecer el límite de cuantificación real de los métodos analíticos. Esto se hizo analizando soluciones estándar cuyos niveles de concentración corresponden a los resultados del LOQ obtenidos por los métodos 1 y 2; los resultados se muestran a continuación:

Tabla 41. Resultados obtenidos para la evaluación del Límite de cuantificación estimado – Método colorimétrico: Cloruro Estañoso.

Concentración de la solución estándar (ppm)	Espectrofotómetro Pharo 300				Espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 11			
	0,03	0,05	0,08	0,10	0,03	0,05	0,08	0,10
Concentraciones Obtenidas	0,01478	0,03825	0,06906	0,09840	0,01972	0,04428	0,07028	0,09772
	0,00892	0,03532	0,07639	0,09986	0,01394	0,04428	0,07605	0,10205
	0,01185	0,04119	0,08079	0,10133	0,01539	0,05583	0,08183	0,10061
	0,01625	0,03825	0,08519	0,10280	0,02117	0,04428	0,08472	0,10205
	0,01332	0,03825	0,08666	0,10280	0,01250	0,04717	0,08761	0,10205
	0,01625	0,02505	0,09106	0,10280	0,01683	0,03417	0,09050	0,10350
	0,01332	0,02065	0,08373	0,09986	0,01683	0,02983	0,08472	0,10205
	0,01625	0,03532	0,07786	0,09986	0,01828	0,04139	0,07894	0,09916
	0,01772	0,04999	0,07933	0,09546	0,01972	0,04572	0,07894	0,09772
Promedio	0,01464	0,03605	0,08035	0,10030	0,01741	0,04500	0,08068	0,10068
Desviación estándar	0,0028	0,0082	0,0066	0,0023	0,0028	0,0095	0,0064	0,0020
CV (%)	19,16	22,63	8,17	2,29	16,22	21,09	7,95	1,97
Error absoluto	0,0154	0,0139	0,0004	0,0003	0,01259	0,00500	0,00068	0,00068
% Error relativo	-51,206	-27,891	0,443	0,304	-41,965	-10,003	0,844	0,684
LC (95%)	±0,002	±0,006	±0,005	±0,002	±0,002	±0,007	±0,005	±0,001

Fuente: Esta investigación

Tabla 42. Resultados obtenidos para la evaluación del Límite de cuantificación estimado – Método colorimétrico: Ácido Ascórbico.

Concentración de la solución estándar (ppm)	Espectrofotómetro Pharo 300				Espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 11			
	0,03	0,05	0,08	0,10	0,03	0,05	0,08	0,10
Concentraciones Obtenidas	0,02110	0,03749	0,07026	0,09940	0,02239	0,03707	0,07011	0,09947
	0,02838	0,04113	0,08665	0,09940	0,02789	0,04074	0,08662	0,09947
	0,02110	0,03749	0,08119	0,10122	0,02055	0,03707	0,08112	0,10131
	0,02292	0,05206	0,08483	0,10122	0,02055	0,04992	0,08479	0,10131
	0,03203	0,03567	0,08665	0,10122	0,03156	0,03523	0,08662	0,10131
	0,02110	0,05023	0,09029	0,10304	0,02055	0,05542	0,09029	0,10314
	0,02474	0,05206	0,08483	0,10304	0,02422	0,04992	0,08479	0,10314
	0,02838	0,05023	0,07755	0,10304	0,02789	0,05175	0,07745	0,10314
	0,03385	0,05388	0,07937	0,09758	0,03340	0,04992	0,07928	0,09763
	0,03567	0,04295	0,07208	0,10122	0,03523	0,04441	0,07194	0,10131
Promedio	0,02693	0,04532	0,08137	0,10104	0,02643	0,04515	0,08130	0,10112
Desviación estándar	0,0055	0,0071	0,0066	0,0018	0,0056	0,0072	0,0066	0,0018

Tabla 42. (Continuación)

Concentración de la solución estándar (ppm)	Espectrofotómetro Pharo 300				Espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 11			
	0,03	0,05	0,08	0,10	0,03	0,05	0,08	0,10
CV (%)	20,61	15,62	8,06	1,79	21,17	15,94	8,14	1,80
Error absoluto	0,0031	0,0047	0,0014	0,0010	0,0036	0,0049	0,0013	0,0011
(%) Error relativo	-10,243	-9,364	1,714	1,037	-11,92	-9,71	1,63	1,12
LC (95%)	±0,004	±0,005	±0,005	±0,001	±0,0040	±0,0051	±0,0047	±0,0013

Fuente. Esta investigación.

A partir de los resultados presentados en las tablas 41 y 42, se pudo establecer que el límite de cuantificación que ofrece mayor precisión es 0,1ppm de fósforo, debido a que esta concentración presentó los menores porcentajes de coeficiente de variación y error relativo.

Con lo anterior se demuestra que es necesario llevar a cabo la comprobación experimental del límite de cuantificación calculado, puesto que en muchas ocasiones el valor obtenido teóricamente no es confiable debido a que es posible obtener resultados precisos y exactos cuando desciende más en la concentración límite y en otros casos es necesario aumentar el nivel de concentración, con lo que parte del trabajo realizado debe ser reconducido si se quiere llegar realmente a conocer el límite de cuantificación de los métodos analíticos.

Los anteriores resultados de límite de detección y de cuantificación estimado permiten establecer que los métodos colorimétricos evaluados son aplicables para el análisis de fósforo total en aguas y lixiviados y con su uso es posible obtener resultados confiables.

Además, teniendo en cuenta que los valores del % de error relativo y del %CV (tablas 41 y 42) obtenidos para el método del ácido ascórbico son menores que los obtenidos para el método del cloruro estañoso a concentraciones inferiores a 0,1ppm de fósforo, indican que el método del ácido ascórbico presenta una mejor exactitud y precisión a concentraciones más bajas. Este es otro argumento para establecer que el método del ácido ascórbico presenta una mayor sensibilidad que el método del cloruro estañoso.

- **Análisis estadístico de las soluciones de 0,1 ppm de fósforo preparadas con las matrices de referencia de agua cruda, de agua residual y de lixiviado.**

En las tablas 43 y 44 se muestran los resultados obtenidos para las soluciones de 0,1 ppm de fósforo preparadas a partir de las matrices de referencia de agua cruda, de agua residual y de lixiviados.

Tabla 43. Resultados obtenidos en los análisis de las soluciones de 0,1ppm de Fósforo preparadas con las matrices de referencia de Agua Cruda, de Agua Residual y de Lixiviados - Método colorimétrico: Cloruro Estañoso y Equipos espectrofotométricos: Pharo 300 y Perkin Elmer Lambda 11.

	Espectrofotómetro Pharo 300			Espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 11		
	Patrón de 0,1ppm Matriz de referencia Agua Cruda	Patrón de 0,1ppm Matriz de referencia Agua Residual	Patrón de 0,1ppm Matriz de referencia Lixiviado	Patrón de 0,1ppm Matriz de referencia Agua Cruda	Patrón de 0,1ppm Matriz de referencia Agua Residual	Patrón de 0,1ppm Matriz de referencia Lixiviado
Concentraciones Obtenidas	0,10426	0,10426	0,09986	0,10350	0,10350	0,09916
	0,10133	0,10280	0,10426	0,10061	0,10205	0,10350
	0,09986	0,10133	0,10426	0,09916	0,10061	0,10350
	0,10426	0,10280	0,10280	0,10350	0,10205	0,10350
	0,10426	0,10133	0,10280	0,10205	0,10061	0,10350
	0,09986	0,10133	0,09986	0,10205	0,10061	0,09916
	0,09986	0,10426	0,10426	0,10205	0,09916	0,10061
	0,10280	0,10133	0,10280	0,10350	0,10061	0,10350
	0,10426	0,09986	0,10426	0,10350	0,09916	0,10350
Promedio	0,10221	0,10192	0,10294	0,10220	0,10090	0,10234
Desviación estándar	0,002	0,002	0,002	0,001	0,001	0,002
CV (%)	1,937	1,547	1,706	1,405	1,316	1,858
LC 95%	±0,001	±0,001	±0,001	±0,001	±0,001	±0,001
Error absoluto (ppm)	0,002	0,002	0,003	0,002	0,001	0,002
Error relativo (%)	2,21	1,92	2,94	2,15	0,89	2,29

Fuente: Esta investigación

Tabla 44. Resultados obtenidos en los análisis de las soluciones de 0,1ppm preparadas con las matrices de referencia de Agua Cruda, Agua Residual y Lixiviados - Método colorimétrico: Ácido Ascórbico y Equipos espectrofotométricos: Pharo 300 y Perkin Elmer Lambda 11

	Espectrofotómetro Pharo 300			Espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 11		
	Patrón de 0,1ppm Matriz de referencia Agua Cruda	Patrón de 0,1ppm Matriz de referencia Agua Residual	Patrón de 0,1ppm Matriz de referencia Lixiviado	Patrón de 0,1ppm Matriz de referencia Agua Cruda	Patrón de 0,1ppm Matriz de referencia Agua Residual	Patrón de 0,1ppm Matriz de referencia Lixiviado
Concentraciones Obtenidas	0,10304	0,10304	0,10122	0,10314	0,10314	0,10131
	0,10122	0,10304	0,10304	0,09947	0,10314	0,10314
	0,09940	0,10122	0,10304	0,10314	0,10131	0,10314
	0,10304	0,10304	0,10304	0,10131	0,10314	0,10314
	0,10304	0,10122	0,09940	0,10131	0,10314	0,09947
	0,09940	0,10122	0,09940	0,09947	0,10131	0,09947
	0,10122	0,09940	0,10304	0,10131	0,09947	0,10314
	0,10304	0,10122	0,10304	0,10131	0,10131	0,10314
	0,10304	0,09940	0,10304	0,10314	0,09947	0,10314
Promedio	0,10177	0,10122	0,10213	0,10167	0,10149	0,10222
Desviación estándar	0,001	0,001	0,002	0,001	0,002	0,002
CV (%)	1,473	1,469	1,515	1,424	1,583	1,526
LC 95%	±0,001	±0,001	±0,001	±0,001	±0,001	±0,001
Error absoluto (ppm)	0,002	0,001	0,002	0,002	0,001	0,002
Error relativo (%)	1,77	1,22	2,13	1,67	1,49	2,22

Fuente: Esta investigación

De igual forma los resultados de los %CV y de error relativo para las soluciones de 0,1ppm de fósforo preparadas con las matrices de referencia, se encuentran por debajo del 3% lo que indica que los resultados son precisos y exactos.

- **Comparación de los resultados obtenidos en los análisis de las soluciones de 0,1 ppm preparadas con agua tipo 2 con los obtenidos de las soluciones preparadas con las matrices de referencia.**

Se compararon los resultados obtenidos en los análisis de las soluciones de 0,1 ppm preparadas con agua tipo 2 con los obtenidos en las soluciones preparadas con las matrices de referencia de agua cruda, de agua residual y de lixiviado, con el fin de identificar si existen o no diferencias estadísticamente significativas entre el tipo de solvente (agua tipo 2 – matriz de referencia), métodos colorimétricos (cloruro estañoso – ácido ascórbico) y equipos espectrofotométrico (Pharo 300 – Perkin Elmer Lambda 11), para lo cual se utilizó la opción comparación de varias muestras del programa Statgraphics Centurion XVI, en donde la prueba estadística utilizada para realizar dicha comparación es el ANOVA, el cual supone

que las varianzas son iguales para todos los grupos; por esta razón se realizó primero una verificación de varianzas con la prueba de Levene para demostrar la homogeneidad de las varianzas.

Tabla 45. Variables para el Análisis de Varianza

No.	Variable
1	Método Cloruro estañoso – Equipo Perkin Elmer Lambda 11 - tipo de solvente Agua tipo 2.
2	Método Cloruro estañoso – Equipo Pharo 300 - tipo de solvente Agua tipo 2.
3	Método Ácido ascórbico – Equipo Perkin Elmer Lambda 11 - tipo de solvente Agua tipo 2.
4	Método Ácido ascórbico – Equipo Pharo 300 - tipo de solvente Agua tipo 2.
5	Método Cloruro estañoso – Equipo Perkin Elmer Lambda 11 - tipo de solvente Matriz de referencia agua cruda.
6	Método Cloruro estañoso – Equipo Pharo 300 - tipo de solvente Matriz de referencia agua cruda.
7	Método Ácido ascórbico – Equipo Perkin Elmer Lambda 11 - tipo de solvente Matriz de referencia agua cruda.
8	Método Ácido ascórbico – Equipo Pharo 300 - tipo de solvente Matriz de referencia agua cruda.
9	Método Cloruro estañoso – Equipo Perkin Elmer Lambda 11 - tipo de solvente Matriz de referencia agua residual.
10	Método Cloruro estañoso – Equipo Pharo 300 - tipo de solvente Matriz de referencia agua residual.
11	Método Ácido ascórbico – Equipo Perkin Elmer Lambda 11 - tipo de solvente Matriz de referencia agua residual.
12	Método Ácido ascórbico – Equipo Pharo 300 - tipo de solvente Matriz de referencia agua residual.
13	Método Cloruro estañoso – Equipo Perkin Elmer Lambda 11 - tipo de solvente Matriz de referencia lixiviado.
14	Método Cloruro estañoso – Equipo Pharo 300 - tipo de solvente Matriz de referencia lixiviado.
15	Método Ácido ascórbico – Equipo Perkin Elmer Lambda 11 - tipo de solvente Matriz de referencia lixiviado.
16	Método Ácido ascórbico – Equipo Pharo 300 - tipo de solvente Matriz de referencia lixiviado.

Fuente: Esta investigación

Tabla 46. Verificación de Varianza

	Prueba	Valor-P
Levene's	0,488976	0,943189

Fuente: Esta investigación

La prueba de Levene mostrada en la tabla 46 evalúa la hipótesis nula de que las desviaciones estándar dentro de cada una de las 16 columnas son iguales.

Puesto que el valor-P es mayor que 0,05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las desviaciones estándar, con un nivel del 95,0% de confianza. Debido a que a partir de la prueba de Levene se obtuvo que no hay diferencias significativas entre las varianzas se procedió a realizar el análisis de varianza (ANOVA).

✓ **Análisis de Varianza (ANOVA)**

En este caso, el análisis de varianza contrasta la hipótesis de igualdad de las Medias para las 16 variables.

La Hipótesis Nula Ho es:

$$\mu_1 - \mu_2 - \mu_3 - \mu_4 - \mu_5 - \mu_6 - \mu_7 - \mu_8 - \mu_9 - \mu_{10} - \mu_{11} - \mu_{12} - \mu_{13} - \mu_{14} - \mu_{15} - \mu_{16} = 0$$

La Hipótesis Alternativa H1 es:

$$\mu_1 - \mu_2 - \mu_3 - \mu_4 - \mu_5 - \mu_6 - \mu_7 - \mu_8 - \mu_9 - \mu_{10} - \mu_{11} - \mu_{12} - \mu_{13} - \mu_{14} - \mu_{15} - \mu_{16} \neq 0$$

Tabla 47. Análisis de Varianza (ANOVA)

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0,0000690937	15	0,00000460625	1,46	0,1260
Intra grupos	0,0004529	144	0,00000314514		
Total (Corr.)	0,000521994	159			

Fuente: Esta investigación

Puesto que el valor-P de la razón-F es mayor 0,05, y que el valor del $F_{\text{Calculado}} < F_{\text{Tabulado}(15;144;0,05)} = 1.736$, con los grados de libertad para el numerador ($gl_1=15$) y el denominador ($gl_2= 144$) y con un contraste a una cola, se concluye que no hay evidencia suficiente para rechazar la Hipótesis Nula. Es decir que no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 16 variables con un nivel del 95,0% de confianza, es decir, no hay diferencias significativas entre métodos (cloruro estañoso y ácido ascórbico), equipos espectrofotométricos (Perkin Elmer Lambda 11 y Pharo 300) tipos de solvente (agua tipo 2 y matriz de referencia) y además éste último indicaría que el efecto matriz no es significativo.

4.2.1.2.4. Precisión

Para evaluar la precisión se tuvieron en cuenta los criterios de aceptación mencionados en la sección 2.7.2.4, dichos criterios son:

1. Coeficiente de variación de Horwitz y el parámetro HorRat para evaluar la repetibilidad y la reproducibilidad.

2. Análisis de Varianza ANOVA para evaluar la reproducibilidad.

Resultados criterio 1: Coeficiente de variación de Horwitz y el parámetro HorRat

➤ **Repetibilidad**

En las tablas 48, 49, 50 y 51 se muestran los resultados obtenidos en concentración (ppm) a partir del análisis de las soluciones estándar de 0,1; 0,5 y 1,0ppm de Fósforo mediante los dos métodos colorimétricos y en los dos equipos espectrofotométricos.

Tabla 48. Resultados obtenidos en el estudio de repetibilidad – Día 1 - Método colorimétrico del Cloruro Estañoso

No de determinación	Espectrofotómetro Pharo 300			Espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 11		
	Concentraciones (ppm)			Concentraciones (ppm)		
	0,1	0,5	1,0	0,1	0,5	1,0
1	0,10133	0,50179	1,00053	0,10061	0,50071	1,00192
2	0,10280	0,49885	1,00346	0,10350	0,49926	1,00047
3	0,09840	0,50325	0,99759	0,09916	0,50215	0,99758
4	0,09986	0,50472	1,00639	0,09916	0,50360	1,00481
5	0,10280	0,49592	1,00199	0,10205	0,49493	1,00336
Promedio	0,10104	0,50091	1,00199	0,10090	0,50013	1,00163
Desviación estándar	0,002	0,004	0,003	0,002	0,003	0,003
DSR _r (%)	1,893	0,705	0,327	1,867	0,665	0,277
DSR _H (%)	22,440	17,627	15,887	22,440	17,627	15,887
Fracción en masa	1X10 ⁻⁶	5X10 ⁻⁶	1X10 ⁻⁵	1X10 ⁻⁶	5X10 ⁻⁶	1X10 ⁻⁵
HorRat	0,084	0,040	0,021	0,083	0,038	0,017
LC 95%	±0,0024	±0,0044	±0,0041	±0,0023	±0,0041	±0,0035
% Error relativo	1,04%	0,18%	0,20%	0,90%	0,03%	0,16%
Error absoluto	0,0010	0,0009	0,0020	0,0009	0,0001	0,0016

Fuente: Esta investigación

Tabla 49. Resultados obtenidos en el estudio de repetibilidad – Día 2 - Método colorimétrico del Cloruro Estañoso

No de determinación	Espectrofotómetro Pharo 300			Espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 11		
	Concentraciones (ppm)			Concentraciones (ppm)		
	0,1	0,5	1,0	0,1	0,5	1,0
1	0,10280	0,49592	1,00053	0,10350	0,49637	1,00192
2	0,10280	0,50179	1,00493	0,10350	0,50071	1,00047
3	0,10133	0,50032	1,00346	0,10205	0,50071	1,00192
4	0,09840	0,50325	1,00493	0,09916	0,50215	1,00481
5	0,09986	0,50179	1,00346	0,10205	0,50215	1,00192

Tabla 49. (Continuación)

	Espectrofotómetro Pharo 300			Espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 11		
	Concentraciones (ppm)			Concentraciones (ppm)		
	0,1	0,5	1,0	0,1	0,5	1,0
Promedio	0,10104	0,50061	1,00346	0,10205	0,50042	1,00221
Desviación estándar	0,002	0,003	0,002	0,002	0,002	0,002
DSR _r (%)	1,893	0,564	0,179	1,733	0,474	0,158
DSR _H (%)	22,440	17,627	15,887	22,440	17,627	15,887
Fracción en masa	1X10 ⁻⁶	5X10 ⁻⁶	1X10 ⁻⁵	1X10 ⁻⁶	5X10 ⁻⁶	1X10 ⁻⁵
HorRat	0,084	0,032	0,011	0,077	0,027	0,010
% Error relativo	1,04%	0,12%	0,35%	2,05%	0,08%	0,22%
Error absoluto	0,001	0,0006	0,003	0,0021	0,0004	0,0022

Fuente: Esta investigación

Tabla 50. Resultados obtenidos en el estudio de repetibilidad – Día 1 - Método colorimétrico del Ácido Ascórbico

No de determinación	Espectrofotómetro Pharo 300			Espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 11		
	Concentraciones (ppm)			Concentraciones (ppm)		
	0,1	0,5	1,0	0,1	0,5	1,0
1	0,10122	0,50181	1,00255	0,10131	0,50140	1,00427
2	0,10304	0,49817	1,00073	0,10314	0,49773	1,00611
3	0,09940	0,50181	0,99709	0,09947	0,50324	0,99877
4	0,10122	0,50545	1,00438	0,09947	0,50507	1,00427
5	0,10304	0,49635	1,00255	0,10131	0,49590	1,00244
Promedio	0,10158	0,50072	1,00146	0,10094	0,50067	1,00317
Desviación estándar	0,002	0,004	0,003	0,002	0,004	0,003
DSR _r (%)	1,500	0,709	0,276	1,521	0,760	0,277
DSR _H (%)	22,440	17,627	15,887	22,440	17,627	15,887
Fracción en masa	1X10 ⁻⁶	5X10 ⁻⁶	1X10 ⁻⁵	1X10 ⁻⁶	5X10 ⁻⁶	1X10 ⁻⁵
HorRat	0,067	0,040	0,017	0,068	0,043	0,017
LC 95%	±0,0019	±0,0044	±0,0034	±0,0019	±0,0047	±0,0035
% Error relativo	1,58%	0,14%	0,15%	0,94%	0,13%	0,32%
Error absoluto	0,0016	0,0007	0,0015	0,0009	0,0007	0,0032

Fuente: Esta investigación

Tabla 51. Resultados obtenidos en el estudio de repetibilidad – Día 2 - Método colorimétrico del Ácido Ascórbico

No de determinación	Espectrofotómetro Pharo 300			Espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 11		
	Concentraciones (ppm)			Concentraciones (ppm)		
	0,1	0,5	1,0	0,1	0,5	1,0
1	0,10304	0,49817	1,00073	0,10314	0,49773	1,00427
2	0,10304	0,50181	1,00620	0,10131	0,50140	1,00611
3	0,10122	0,49999	1,00255	0,10131	0,49957	1,00427
4	0,09940	0,50363	1,00255	0,09947	0,50324	1,00060
5	0,10122	0,50181	1,00620	0,09947	0,49957	1,00611
Promedio	0,10158	0,50108	1,00365	0,10094	0,50030	1,00427
Desviación estándar	0,0015	0,0021	0,0024	0,0015	0,0021	0,0022
DSR _r (%)	1,500	0,414	0,243	1,521	0,418	0,224
DSR _H (%)	22,440	17,627	15,887	22,440	17,627	15,887
Fracción en masa	1X10 ⁻⁶	5X10 ⁻⁶	1X10 ⁻⁵	1X10 ⁻⁶	5X10 ⁻⁶	1X10 ⁻⁵
HorRat	0,067	0,024	0,015	0,068	0,024	0,014
% Error relativo	1,58%	0,22%	0,36%	0,94%	0,06%	0,43%
Error absoluto	0,0016	0,0011	0,0036	0,0009	0,0003	0,0043

Fuente: Esta investigación

➤ **Reproducibilidad**

En la tabla 52 se muestran los resultados obtenidos en la evaluación del parámetro de HorRat para el estudio de reproducibilidad entre días (día 1 y día 2), equipos espectrofotométricos (Perkin Elmer Lambda 11 y Pharo 300) y métodos colorimétricos (cloruro estañoso y ácido ascórbico).

Tabla52. Resultados obtenidos en el estudio de reproducibilidad – Día1 y Día 2 - Métodos colométricos: Cloruro Estañoso y Ácido Ascórbico – Equipos: Perkin Elmer Lambda 11 y Pharo 300.

		0,1 ppm P	0,5 ppm P	1,0 ppm P
PARÁMETROS ESTADÍSTICOS	NUMERO DE DATOS	40	40	40
	PROMEDIO	0,101075	0,500625	1,002725
	DESVIACION ESTANDAR	0,001685344	0,002752039	0,002364128
	DSR _r (%)	1,667419307	0,549720623	0,235770355
	DSR _H (%)	22,440	17,627	15,887
	Fracción en masa	1X10 ⁻⁶	5X10 ⁻⁶	1X10 ⁻⁵
	HorRat	0,07430445	0,03118585	0,01484086

A partir de los valores HorRat obtenidos para cada nivel de concentración, tanto en el estudio de la repetibilidad como de la reproducibilidad de los métodos analíticos validados, se observa que se obtienen valores menores a 0,2. Estos resultados pueden indicar promedio no reportado o excelente entrenamiento y experiencia.

Al evaluar estas dos posibles causas se puede observar que los promedios de las concentraciones obtenidos en el análisis son cercanos a los valores teóricos de las soluciones estándar de fósforo evaluadas, por lo que los bajos resultados del parámetro HorRat obtenidos se deben directamente a bajos valores en las desviaciones estándar relativas obtenidas para cada nivel de concentración. Lo anterior indica que existe una baja dispersión de los resultados con respecto al valor medio de las medidas, debido a que existe una adecuada formación y experiencia en la medición, implicando que los resultados obtenidos indiquen que los métodos utilizados generan resultados repetibles y reproducibles a lo largo del intervalo de concentraciones evaluadas.

Resultados criterio 2: Precisión evaluada mediante el Análisis de Varianza ANOVA

Para verificar si existen o no diferencias estadísticamente significativas entre los resultados obtenidos a partir del análisis realizado en dos días, utilizando dos métodos colorimétricos (Cloruro estañoso y Ácido ascórbico) y realizando las determinaciones en dos equipos (Perkin Elmer Lambda 11 y Pharo 300) para cada nivel de concentración, se hizo una comparación de los resultados obtenidos con el uso del programa estadístico Statgraphics Centurion XVI, utilizando la opción comparación de varias muestras, los resultados se muestran a continuación.

Tabla 53. Variables para la evaluación de la reproducibilidad

No	VARIABLES
1	Método Cloruro estañoso / Equipo Perkin Elmer Lambda 11 - Día 1
2	Método Cloruro estañoso / Equipo Pharo 300 - Día 1
3	Método Ácido ascórbico / Equipo Perkin Elmer Lambda 11 - Día 1
4	Método Ácido ascórbico / Equipo Pharo 300 - Día 1
5	Método Cloruro estañoso / Equipo Perkin Elmer Lambda 11 - Día 2
6	Método Cloruro estañoso / Equipo Pharo 300 - Día 2
7	Método Ácido ascórbico / Equipo Perkin Elmer Lambda 11 - Día 2
8	Método Ácido ascórbico / Equipo Pharo 300 - Día 2

Fuente: Esta investigación

✓ **Nivel de concentración 0,1ppm de Fósforo**

Tabla 54. Análisis de Varianza (ANOVA) - concentración 0,1ppm de Fósforo

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0,000006375	7	9,10714E-7	0,28	0,9575
Intra grupos	0,0001044	32	0,0000032625		
Total (Corr.)	0,000110775	39			

Fuente: Esta investigación

Tabla 55. Verificación de Varianza

	Prueba	Valor-P
Levene's	0,159266	0,991394

Fuente: Esta investigación

✓ **Nivel de concentración 0,5 ppm de Fósforo**

Tabla 56. Análisis de Varianza (ANOVA) - concentración 0,5ppm de Fósforo

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0,000003775	7	5,39286E-7	0,06	0,9996
Intra grupos	0,0002916	32	0,0000091125		
Total (Corr.)	0,000295375	39			

Fuente: Esta investigación

Tabla 57. Verificación de Varianza

	Prueba	Valor-P
Levene's	0,79588	0,59639

Fuente: Esta investigación

✓ **Nivel de concentración 1,0 ppm de Fósforo**

Tabla 58. Análisis de Varianza (ANOVA) - concentración 1,0ppm de Fósforo

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0,000035975	7	0,00000513929	0,90	0,5159
Intra grupos	0,000182	32	0,0000056875		
Total (Corr.)	0,000217975	39			

Fuente: Esta investigación

Tabla 59. Verificación de Varianza

	Prueba	Valor-P
Levene's	0,41069	0,888514

Fuente: Esta investigación

Para la evaluación de los resultados se establece como hipótesis nula que todas las muestras se extraen de una población de μ y varianza iguales; es decir que se evalúan y se comparan resultados que presentan iguales valores medios y de desviación. Debido a que en las tablas 54, 56 y 58 el valor-P de la razón-F es mayor 0,05, y a que el valor del $F_{\text{Calculado}} < F_{\text{Tabulado}(7;32;0,05)} = 2,312$, correspondiente al valor para los grados de libertad de la variación entre grupos ($gl_1=7$) e intra grupos ($gl_2=32$) y con un contraste a una cola, en todos los casos, se demuestra que no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 8 variables para cada nivel de concentración con un nivel del 95,0% de confianza.

Este resultado indica que las estimaciones no difieren significativamente y que el hecho de variar los factores (Día, Método y Equipo) no introduce un error significativo, por lo tanto los resultados se consideran precisos.

4.2.1.2.5. Efecto matriz

El efecto matriz se evaluó mediante la determinación del porcentaje de efecto matriz (%EM) mencionado en la sección 2.7.2.5.

- **Evaluación y expresión del efecto matriz**
- ✓ *Expresión del efecto matriz - Porcentaje de efecto matriz:* Con el uso de la ecuación 16 se calculó el porcentaje del efecto matriz y en la tabla 56 se muestran los resultados:

$$\% \text{ Efecto Matriz} = \left(\frac{\text{Respuesta en matriz}}{\text{Respuesta en agua tipo 2}} \right) \times 100\% \quad \text{Ecuación 16}$$

Tabla 60. Porcentaje Efecto Matriz

	M1 E1	M1 E2	M2 E1	M2 E2
BK Ref. AC	99,44%	100,03%	100,00%	101,15%
BK Ref. AR	99,77%	100,68%	100,25%	101,15%
BK Ref. L	99,60%	100,36%	101,01%	100,43%
Patrón 0,1ppm Ref. AC	100,73%	100,56%	101,42%	101,12%
Patrón 0,1ppm Ref. AR	100,18%	100,37%	101,20%	100,11%
Patrón 0,1ppm Ref. L	101,09%	101,11%	101,97%	101,23%

Fuente: Esta investigación

M1 E1: Método del Ácido ascórbico – Espectrofotómetro Pharo 300.

M1 E2: Método del Ácido ascórbico – Espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 11.

M2 E1: Método del Cloruro Estañoso – Espectrofotómetro Pharo 300.

M2 E2: Método del Cloruro Estañoso – Espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 11.

BK Ref AC.: Blanco preparado con la matriz de referencia de agua cruda.

BK Ref AR.: Blanco preparado con la matriz de referencia de agua residual.

BK Ref L.: Blanco preparado con la matriz de referencia de lixiviado

Patrón 0,1 ppm Ref. AC: Patrón de 0,1 ppm de fósforo preparado con la matriz de referencia de agua cruda.

Patrón 0,1 ppm Ref. AR: Patrón de 0,1 ppm de fósforo preparado con la matriz de referencia de agua residual.

Patrón 0,1 ppm Ref. L: Patrón de 0,1 ppm de fósforo preparado con la matriz de referencia de lixiviado.

En la Tabla 60 se observa que los valores de porcentaje de efecto matriz están entre el 99 y 102%, lo cual indica que la respuesta en agua tipo 2 es similar a la respuesta en matriz, hecho que demuestra que no es significativo el efecto de la matriz en los métodos colorimétricos validados. Esto se confirma con los resultados obtenidos a partir de las comparaciones de las señales emitidas por los blancos mostrados en la Tabla 37 y en los resultados obtenidos a partir de las comparaciones de la concentración de 0,1 ppm de fósforo cuyos resultados se presentaron en la Tabla 43, los cuales demuestran que no se presentan diferencias estadísticamente significativas entre el tipo de solvente (agua tipo 2 y matriz de referencia), y también evidencian que no se presentan diferencias significativas entre los métodos colorimétricos (ácido ascórbico y cloruro estañoso) y entre los equipos espectrofotométricos (Perkin Elmer Lambda 11 y Pharo 300) utilizados para realizar los análisis.

4.2.1.2.6. Exactitud

En las Tablas 61, 62, 63 y 64 se muestran los resultados obtenidos para la determinación de la exactitud a partir del análisis de muestras reales, patrones y muestras adicionadas por los métodos colorimétricos Cloruro Estañoso y Ácido Ascórbico y las lecturas medidas en los equipos espectrofotométricos Pharo 300 y Perkin Elmer Lambda 11.

Tabla 61. Resultados obtenidos para la determinación de la exactitud a partir del análisis de muestras reales, patrones y muestras adicionadas - Método colorimétrico: Cloruro Estañoso y Equipo espectrofotométrico: Pharo 300.

Ítem	Concentración teórica	Promedio Concentraciones obtenidas (ppm)	Desviación estándar	Coefficiente de variación	Error absoluto	Error relativo	Límite de confianza
P1	0,2 ppm	0,19888	0,006	3,06	0,0011	-0,56%	±0,0043
M1	AC	0,14284	0,006	4,05			±0,0041

Tabla 61. (Continuación)

Ítem	Concentración teórica	Promedio Concentraciones obtenidas (ppm)	Desviación estándar	Coefficiente de variación	Error absoluto	Error relativo	Límite de confianza
M1+P1	AC + 0,2 ppm	0,33764	0,012	3,44			±0,0083
P2	2,0 ppm	2,02954	0,078	3,82	0,0295	1,48%	±0,0554
M2	AR	4,05383	0,175	4,32			±0,1252
M2+P2	AR + 2 ppm	6,02825	0,186	3,09			±0,1330
P3	50,0 ppm	49,49943	1,252	2,53	0,5006	-1,00%	±0,8948
M3	L	22,47605	0,719	3,20			±0,5141
M3+P3	L + 50 ppm	70,95634	1,518	2,14			±1,0849

Fuente: Esta investigación

Tabla 62. Resultados obtenidos para la determinación de la exactitud a partir del análisis de muestras reales, patrones y muestras adicionadas - Método colorimétrico: Cloruro Estañoso y Equipo espectrofotométrico: Perkin Elmer Lambda 11.

Ítem	Concentración teórica	Promedio Concentraciones obtenidas (ppm)	Desviación estándar	Coefficiente de variación	Error absoluto	Error relativo	Límite de confianza
P1	0,2 ppm	0,19912	0,006	3,19	0,00088	-0,004	±0,0045
M1	AC	0,14293	0,005	3,66			±0,0037
M1+P1	AC + 0,2 ppm	0,33763	0,011	3,40			±0,0082
P2	2,0 ppm	2,03816	0,082	4,03	0,0382	1,91%	±0,0588
M2	AR	4,05455	0,179	4,41			±0,1277
M2+P2	AR + 2 ppm	6,03339	0,179	2,97			±0,1279
P3	50,0 ppm	49,23750	1,240	2,52	0,7625	-1,09%	±0,8861
M3	L	22,50631	0,761	3,38			±0,5441
M3+P3	L + 50 ppm	70,65912	1,715	2,43			±1,2257

Fuente: Esta investigación

Tabla 63. Resultados obtenidos para la determinación de la exactitud a partir del análisis de muestras reales, patrones y muestras adicionadas - Método colorimétrico: Ácido Ascórbico y Equipo espectrofotométrico: Pharo 300.

Ítem	Concentración teórica	Promedio Concentraciones obtenidas (ppm)	Desviación estándar	Coefficiente de variación	Error absoluto	Error relativo	Límite de confianza
P1	0,2 ppm	0,19918	0,006	2,82	0,0008	-0,4088	±0,0020
M1	AC	0,14255	0,006	4,43			±0,0019
M1+P1	AC + 0,2 ppm	0,33757	0,012	3,56			±0,0029
P2	2,0 ppm	2,03166	0,074	3,66	0,0317	1,5831	±0,0214
M2	AR	4,06377	0,173	4,27			±0,0408
M2+P2	AR + 2 ppm	6,04124	0,187	3,09			±0,0749

Tabla 63. (Continuación)

Item	Concentración teórica	Promedio Concentraciones obtenidas (ppm)	Desviación estándar	Coefficiente de variación	Error absoluto	Error relativo	Límite de confianza
P3	50,0 ppm	49,43141	1,288	2,60	0,5686	-1,1372	±0,4850
M3	L	22,50789	0,720	3,20			±0,2401
M3+P3	L + 50 ppm	70,89779	1,564	2,21			±0,5900

Fuente: Esta investigación

Tabla 64. Resultados obtenidos para la determinación de la exactitud a partir del análisis de muestras reales, patrones y muestras adicionadas - Método colorimétrico: Ácido Ascórbico y Equipo espectrofotométrico: Perkin Elmer Lambda 11.

Item	Concentración teórica	Promedio Concentraciones obtenidas (ppm)	Desviación estándar	Coefficiente de variación	Error absoluto	Error relativo	Límite de confianza
P1	0,2 ppm	0,19858	0,007	3,29	0,0014	-0,7118	±0,0047
M1	AC	0,14297	0,006	4,45			±0,0045
M1+P1	AC + 0,2 ppm	0,33696	0,009	2,80			±0,0068
P2	2,0 ppm	2,03345	0,075	3,69	0,0335	1,6726	±0,0536
M2	AR	4,05962	0,171	4,22			±0,1225
M2+P2	AR + 2 ppm	6,03808	0,177	2,92			±0,1261
P3	50,0 ppm	49,41470	1,266	2,56	0,5853	-1,1706	±0,9046
M3	L	22,45911	0,718	3,20			±0,5130
M3+P3	L + 50 ppm	70,81927	1,652	2,33			±1,1804

Fuente: Esta investigación

Los resultados referentes a la exactitud obtenidos por medio de la prueba de recuperación, correspondientes a los métodos validados y a sus determinaciones realizadas en los equipos Perkin Elmer Lambda 11 y Pharo 300, se muestran a continuación:

Tabla 65. Porcentajes de recuperación

Matriz	Método: Cloruro estañoso/Perkin Elmer Lamba 11	Método: Cloruro estañoso/Pharo 300	Método: Ácido ascórbico/Perkin Elmer Lamba 11	Método: Ácido ascórbico/ Pharo 300
AC	97,785 %	97,950 %	97,691 %	97,908 %
AR	97,089%	97,284 %	97,295 %	97,333 %
L	97,797 %	97,941 %	97,866 %	97,893 %

Fuente: Esta investigación

AC: Agua cruda

AR: Agua residual

L: Lixiviado

Los porcentajes de fósforo total recuperado muestran que los métodos validados presentan exactitud, es decir, que los valores obtenidos en la determinación están próximos al valor verdadero. Porcentajes de recuperación entre 97% y 98% son considerados aceptables.¹²⁵

Además teniendo en cuenta que los %CV mostrados en las tablas 61, 62, 63 y 64 para cada matriz se encuentran por debajo del 5% indica que existe una baja dispersión de los resultados con respecto al valor medio de las medidas, con lo cual se confirma la exactitud de los métodos validados.

Por otra parte, para evaluar el sesgo se utilizó la Prueba t correspondiente a la ecuación 20. Los resultados obtenidos se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 66. Determinación del sesgo

MÉTODO/EQUIPO	Soluciones Patrón	SESGO - Valor t_{calc}
Método: Ácido ascórbico – Equipo Pharo 300	P1 = 0,2ppm	0,0460
	P2 = 2,0ppm	0,1345
	P3 = 50ppm	0,1396
Método: Ácido ascórbico – Equipo Perkin Elmer Lambda 11	P1 = 0,2ppm	0,0689
	P2 = 2,0ppm	0,1410
	P3 = 50ppm	0,1462
Método: Cloruro estañoso – Equipo Pharo 300	P1 = 0,2ppm	0,0584
	P2 = 2,0ppm	0,1205
	P3 = 50ppm	0,1264
Método: Cloruro estañoso – Equipo Perkin Elmer Lambda 11	P1 = 0,2ppm	0,0440
	P2 = 2,0ppm	0,1468
	P3 = 50ppm	0,1945

Fuente: Esta investigación

El valor de $t_{(9,0.05)}$ con un contraste a 2 colas, es de 2,262, cumpliéndose que $t_{calculada} < t_{tabulada}$. Es decir, no hay diferencias significativas, lo que indica que el sesgo obtenido para los métodos analíticos utilizados (cloruro estañoso y ácido ascórbico) y las lecturas determinadas en los dos equipos espectrofotométricos (Perkin Elmer Lambda 11 y Pharo 300), es aceptable con una veracidad igualmente aceptable.

Para verificar si existen o no diferencias significativas entre los resultados obtenidos mediante los dos métodos verificados (cloruro estañoso y ácido ascórbico) y entre los equipos utilizados para realizar los análisis (Perkin Elmer Lambda 11 y Pharo 300) para la determinación de la concentración de las muestras de agua cruda, de agua residual y de lixiviados, se hizo un análisis de

¹²⁵AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION, WATER POLLUTION CONTROL FEDERATION.Op. cit., p 1-18.

varianza mediante la opción comparación de varias muestras del programa estadístico Statgraphics Centurion XVI; los resultados se muestran a continuación:

Tabla 67. Comparación ANOVA

Comparación de resultados obtenidos del análisis de Agua Cruda	ANOVA					
	Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
	Entre grupos	6,75E-7	3	2,25E-7	0,01	0,9993
	Intra grupos	0,0012491	36	0,0000346972		
	Total (Corr.)	0,00124977	39			
Comparación de resultados obtenidos del análisis de Agua Residual	ANOVA					
	Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
	Entre grupos	0,000660675	3	0,000220225	0,01	0,9991
	Intra grupos	1,09844	36	0,0305122		
	Total (Corr.)	1,0991	39			
Comparación de resultados obtenidos del análisis de Lixiviado	ANOVA					
	Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
	Entre grupos	0,0170009	3	0,00566696	0,01	0,9985
	Intra grupos	19,1737	36	0,532602		
	Total (Corr.)	19,1907	39			

Las variables evaluadas para cada tipo de muestra (agua cruda, agua residual y lixiviado) fueron:

1. Concentración determinada con el método colorimétrico Cloruro estañoso – Equipo Pharo 300.
2. Concentración determinada con el método colorimétrico Cloruro estañoso – Equipo Perkin Elmer Lambda 11.
3. Concentración determinada con el método colorimétrico Ácido ascórbico – Equipo Pharo 300.
4. Concentración determinada con el método colorimétrico Ácido ascórbico – Equipo Perkin Elmer Lambda 11.

A partir del análisis de varianza para cada tipo de muestra se concluye que debido a que el valor-P de la razón-F es mayor que 0,05, y a que el valor del $F_{\text{Calculado}} < F_{\text{Tabulado}} (3;36;0,05) = 2,866$ no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 4 variables con un nivel del 95,0% de confianza. Los

resultados obtenidos en la evaluación de la exactitud de los métodos analíticos validados permitieron además evidenciar que las muestras recolectadas para su posterior análisis son representativas.

Habiendo evaluado todos los parámetros de desempeño para la validación de los métodos colorimétricos Cloruro estañoso y Ácido ascórbico, se puede asegurar que el intervalo de trabajo comprendido entre las concentraciones 0,1 y 1,2 ppm de Fósforo demuestra adecuados niveles de precisión, exactitud y linealidad.

4.2.1.2.7. Estimación de la incertidumbre de medición de Fósforo total.

1. Identificación de las Fuentes de Incertidumbre

A continuación, en la tabla 64 se muestran las fuentes de incertidumbre que afectan la cuantificación para el análisis de Fósforo total mediante los métodos colorimétricos del cloruro estañoso y del ácido ascórbico.

Tabla 68. Fuentes de incertidumbre para el análisis de Fósforo Total.

FUENTES
1. Preparación de la solución patrón (50ppm de Fósforo)
a). Medición de la masa de KH_2PO_4 pesada.
b). Incertidumbre por resolución de la balanza
c). Incertidumbre debida a la masa molar de KH_2PO_4
d). Preparación de la solución patrón (Volumen final 1000mL)
e). Incertidumbre de la pureza del reactivo
2. Incertidumbre debida a la preparación de la Solución intermedia (10ppm de fósforo) a partir de la solución patrón de 50 ppm.
a). Incertidumbre factor de dilución - Dilución 20mL - 100mL
- Incertidumbre de la alícuota V1 (20 mL)
- Incertidumbre relativa del aforo V2 (100mL)
3. Incertidumbre debida a la concentración de la Solución de 1ppm de fósforo a partir de la solución de 10ppm.
a). Incertidumbre factor de dilución - Factor de dilución 10mL (V1) - 100mL (V2)
- Incertidumbre de la alícuota V1 (10 mL)
- Incertidumbre relativa del aforo V2 (100mL)
b). Precisión Solución Estándar 1ppm de Fósforo
- Repetibilidad de la solución patrón de 1ppm
- Reproducibilidad de la solución patrón de 1ppm
4. Concentración de Fósforo total medido en el instrumento a través de la curva de calibración
a). Curva de calibración
b). Incertidumbre debida a la lectura del blanco
5. Precisión de las muestras
a). Factor de dilución (si es el caso)
b). Reproducibilidad

Fuente: Esta investigación

2. Estimación de las fuentes que aportan incertidumbre para el método de Fósforo total.

Cálculos

1. Incertidumbre debida a la Concentración de la Solución patrón (50 ppm)

Para a) la estimación de la incertidumbre de la medición de KH_2PO_4 pesada y b) la resolución de la balanza se utilizaron las ecuaciones 22, 23, 24 y 25, los resultados obtenidos se muestran a continuación:

Tabla 69. Resultados de la estimación de la incertidumbre de la medición de KH_2PO_4 pesada y de la resolución de la balanza.

	Masa de KH_2PO_4	Incertidumbre por resolución de la balanza:
Incertidumbre original U	0,000264783	0,0002646
Incertidumbre estándar <i>uxi</i>	0,000132392	0,0001323
Incertidumbre combinada UCxi	0,000187165	
Incertidumbre relativa UR	0,000852689	

Fuente: Esta investigación

c) Incertidumbre debida a la masa molar de KH_2PO_4

Para la determinación de la incertidumbre estándar de la masa molar del KH_2PO_4 , primero se halla la incertidumbre estándar de cada elemento, utilizando la ecuación 26, luego para calcular la incertidumbre estándar relativa (UR) se usa la ecuación 27, los resultados se presentan en la tabla 65.

Tabla 70. Incertidumbre estándar de los átomos K, H, P y O

Elemento	Peso molar	Incertidumbre original	Incertidumbre estándar
K	39,0983	0,0001	5,7735E-05
H ₂	2,01584	0,00007	8,0829E-05
P	30,973761	0,000002	1,1547E-06
O ₄	63,9976	0,0003	6,93E-04
UR	5,14313E-06		

Fuente: Esta investigación

d. Preparación de la solución patrón (volumen final 1000mL)

Se calculó a partir de la incertidumbre de tolerancia del material volumétrico, aplicando la ecuación 31.

$$U_{ti} = 0,288675135$$

La estimación de la incertidumbre relativa del V_n , se determinó de acuerdo a la ecuación 32

$$U_{vn} = 0,000288675$$

e. Incertidumbre de la pureza del reactivo. (U_r)

En este caso a partir del certificado del reactivo KH_2PO_4 emitido por el fabricante (MERCK) se tiene que la pureza del reactivo es del 100%, por lo tanto la (U_r)=0

2. Incertidumbre debida a la preparación de la Solución intermedia (10ppm de fósforo)

La solución de 10ppm de Fósforo se preparó a partir de la solución patrón de 50 ppm, por lo tanto para evaluar la incertidumbre debida a la preparación de esta solución se tuvo en cuenta las incertidumbres debidas al factor de dilución, para los respectivos cálculos se aplicaron las ecuaciones 28, 29, 30, 31 y 32, los resultados se muestran a continuación:

En este caso $V_1 = 20\text{mL}$ (volumen de la alícuota) y $V_2 = 100\text{mL}$ (volumen del aforo)

Tabla 71. Resultados incertidumbre debida a la preparación de la solución de 10ppm de fósforo.

V1 (20mL)	U_v	0,003163417
	UT	9,69948E-05
	U_{ti}	0,023094011
	UV1	0,001154726
Incertidumbre del aforo V2 (100 mL)	U_v :	0,015678038
	UT	0,000969948
	U_{ti}	0,057735027
	UV2	0,000597588
Ufd=		5,80447E-05

Fuente: Esta investigación

Donde:

U_v = La incertidumbre relacionada con el efecto de la variabilidad o repetibilidad del volumen medido

UT= La incertidumbre relacionada con el efecto de la variación de la temperatura con respecto a la temperatura de calibración del material volumétrico.

U_{t} = La incertidumbre estándar relacionada con la tolerancia del material volumétrico

UV1= Incertidumbre de la alícuota

UV2= Incertidumbre del aforo

3. Incertidumbre debida a la concentración de la Solución de 1ppm de fósforo.

Se identificaron 2 fuentes de incertidumbre: I Incertidumbre del factor de dilución y II Incertidumbre de la precisión de la solución de 1ppm de fósforo, los respectivos cálculos se muestran a continuación:

I. Incertidumbre del factor de dilución: Se determina aplicando las ecuaciones 28, 29, 30, 31 y 32, Los resultados se muestran a continuación:

Tabla 72. Resultados incertidumbre debida a la preparación de la solución de 1ppm de fósforo.

V1 (10mL)	Uv:	0,004530264
	UT	4,84974E-05
	U_{t}	0,011547005
	UV1	0,001154906
Incertidumbre del aforo V2 (100 mL)	Uv:	0,015678038
	UT	0,000969948
	U_{t}	0,057735027
	UV2	0,000597588
Ufd=		0,000115491

Fuente: Esta investigación

2. Incertidumbre de la precisión de la solución de 1ppm de Fósforo: Se tuvo en cuenta 2 fuentes de incertidumbre: I. Incertidumbre de la repetibilidad relacionada con las determinaciones que se hicieron en el día 1 y II. Incertidumbre de la reproducibilidad, relacionada con las determinaciones realizadas en el día 1 y día 2. Para el cálculo de la incertidumbre de la precisión se aplicaron las ecuaciones 36, 37, 38 y 39. Cabe resaltar que los cálculos se hicieron para cada método y para cada equipo. Los resultados se muestran a continuación:

Tabla 73. Incertidumbre asociada con la reproducibilidad de la solución de 1ppm de Fósforo

Tipo de incertidumbre	Ácido ascórbico –Perkin Elmer Lambda 11	Ácido ascórbico –Pharo 300	Cloruro estañoso –Perkin Elmer Lambda 11	Cloruro estañoso – equipo Pharo 300
Urepetibilidad	0,001244761	0,001234981	0,001242523	0,001466877
Ureproducibilidad	0,000776245	0,000858371	0,000680899	0,000825458
Uprecisión	0,001466965	0,001503988	0,001416858	0,001683184
UR	0,001466965	0,001503988	0,001416858	0,001683184

Fuente: Esta investigación

Tabla 74. Incertidumbre relativa combinada de la solución de 1ppm de Fósforo

Tipo de incertidumbre	Ácido ascórbico – Perkin Elmer Lambda 11	Ácido ascórbico – Pharo 300	Cloruro estañoso –Perkin Elmer Lambda 11	Cloruro estañoso – equipo Pharo 300
UCR	0,001471504	0,001508416	0,001421557	0,001687141

Fuente: Esta investigación

4. Concentración de Fósforo total medido en el instrumento a través de la curva de calibración

Se identificaron dos fuentes de incertidumbre: I. Incertidumbre de debida a la curva de calibración y II. Incertidumbre debida a la lectura del blanco, esta última se tiene en cuenta solo si el método aplica la corrección del blanco en la ecuación de resultado final como en este caso. Para su respectivo cálculo se aplicaron las ecuaciones 33, 34 y 35.

Los cálculos se hicieron para cada método y para cada equipo. Los resultados se muestran a continuación:

Tabla 75. Incertidumbre asociada con la concentración de Fósforo total medido en el instrumento a través de la curva de calibración.

Tipo de incertidumbre	Ácido ascórbico – Perkin Elmer Lambda 11	Ácido ascórbico – Pharo 300	Cloruro estañoso –Perkin Elmer Lambda 11	Cloruro estañoso – equipo Pharo 300
$U_{Y(PT)}$	0,005285994	0,006546538	0,011536955	0,011681461
Ublanco	0,0002828	0,000301611	0,000153528	0,000156717
URC	0,005293554	0,006553483	0,011537976	0,011682512

Fuente: Esta investigación

5. Incertidumbre de la precisión de las muestras

Para el cálculo de la incertidumbre de la precisión se aplicaron las ecuaciones 36, 37, 38 y 39.

Así mismo se calcularon las incertidumbres relativas de los factores de dilución para las muestras de agua residual (para la cual se hizo una dilución de 5mL (V1) en 100mL (V2)) y de lixiviado (para la cual se hicieron 2 diluciones (dilución 1: 20mL (V1) en 50mL (V2) y dilución 2: 2mL (V1) en 100mL (V2)); para el cálculo de las estimaciones de la incertidumbre del factor de dilución se aplicaron las ecuaciones 28, 29, 30, 31 y 32.

Los cálculos se hicieron para cada matriz (agua cruda, agua residual y lixiviado), para cada método y para cada equipo, los resultados se muestran a continuación:

Muestra de agua cruda

En la tabla 76 se muestran los resultados del cálculo de la incertidumbre estándar de precisión e incertidumbre relativa de precisión para la muestra de agua cruda en cada método y equipo.

Tabla 76. Incertidumbre de la precisión de la muestra de agua cruda

Matriz	Tipo de incertidumbre	Ácido ascórbico – Perkin Elmer Lambda 11	Ácido ascórbico – Pharo 300	Cloruro estañoso – Perkin Elmer Lambda 11	Cloruro estañoso – equipo Pharo 300
Agua cruda	Uprecisión	0,002011401	0,001995598	0,001654598	0,00183017
	UR	0,014069007	0,013998995	0,011576338	0,012812448

Fuente: Esta investigación

Muestra de agua residual

Tabla 77. Incertidumbre relacionada con el factor de dilución

Volumen	Tipo de incertidumbre	Resultado
V1	U _v	0,001549068
	U _T	-2,42487E-05
	U _{ti}	0,017320508
	UV1	0,00347803
V2	U _v	0,015678038
	U _T	0,000969948
	U _{ti}	0,057735027
	UV2	0,000597588
	Ufd	0,000695632

Fuente: Esta investigación

Tabla 78. Incertidumbre de la precisión de las muestras de agua residual

Tipo de incertidumbre	Ácido ascórbico – Perkin Elmer Lambda 11	Ácido ascórbico – Pharo 300	Cloruro estañoso – Perkin Elmer Lambda 11	Cloruro estañoso – equipo Pharo 300
Uprecisión	0,054223388	0,054828367	0,056485861	0,055397131
UR	0,013356754	0,01349201	0,013931468	0,013665367
URC	0,013374856	0,013509931	0,01394882	0,01368306

Fuente: Esta investigación

Muestra de lixiviado

Tabla 79. Incertidumbre relacionada con el factor de dilución

Dilución	Volumen	Tipo de incertidumbre	Resultado
1: 20mL (V1) en 50mL (V2)	V1	U _v	0,003163417
		UT	9,69948E-05
		U _{fl}	0,023094011
		UV1	0,001154726
	V2	U _v	0,006456214
		UT	0
		U _{fl}	0,034641016
		UV2	0,000704737
		Ufd₁	5,94318E-05
2: 2mL (V1) en 100mL (V2)	V1	U _v	0,010398737
		UT	0
		U _{fl}	0,005773503
		UV1	0,005986509
	V2	U _v	0,015678038
		UT	0,000969948
		U _{fl}	0,057735027
		UV2	0,000597588
		Ufd₂	0,002993261
Incertidumbre combinada Del factor del dilución		Ufd	0,002993851

Fuente: Esta investigación

Tabla 80. Incertidumbre de la precisión de las muestras de lixiviado

Tipo de incertidumbre	Ácido ascórbico – Perkin Elmer Lambda 11	Ácido ascórbico – Pharo 300	Cloruro estañoso – Perkin Elmer Lambda 11	Cloruro estañoso – equipo Pharo 300
Uprecisión	0,226978061	0,227736501	0,240733997	0,227461195
UR	0,010106282	0,010118075	0,010696291	0,010120157
URC	0,010540402	0,01055171	0,01110737	0,01055371

Fuente: Esta investigación

INCERTIDUMBRE ESTÁNDAR COMBINADA EN EL ANÁLISIS DE FÓSFORO TOTAL

Se calculó utilizando la ecuación 40

Los cálculos se hicieron para cada matriz (agua cruda, agua residual y lixiviado), para cada método evaluado (método de ácido ascórbico y método del cloruro estañoso) y para cada equipo en el que se hicieron las determinaciones (Perkin Elmer Lambda 11 y Pharo 300).

Tabla 81. Resultados incertidumbre combinada

	Ácido ascórbico – Perkin Elmer Lambda 11	Ácido ascórbico – Pharo 300	Cloruro estañoso – Perkin Elmer Lambda 11	Cloruro estañoso – equipo Pharo 300
UC Agua cruda	0,015130691	0,015556642	0,011660024	0,017444202
UC Agua residual	0,014487499	0,015114414	0,018184437	0,0180933
UC Lixiviado	0,011920609	0,012540568	0,016108315	0,015859447

Fuente: Esta investigación

UC: Incertidumbre combinada

EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS

Incertidumbre Estándar Combinada:

Desarrollando el factor $(UC * [P_T]_{\text{muestra}} * 2)$ de la ecuación 43 para cada matriz, método y equipo se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 82. Desarrollo del factor (UC * [P_T]muestra * 2)

	Ácido ascórbico –Perkin Elmer Lambda 11	Ácido ascórbico –Pharo 300	Cloruro estañoso – Perkin Elmer Lambda 11	Cloruro estañoso – Pharo 300
(UC * [P _T]muestra * 2) para Agua cruda	0,004326	0,004435	0,003333	0,004984
(UC * [P _T]muestra * 2) para Agua residual	0,11763	0,1228	0,1475	0,1467
(UC * [P _T]muestra * 2) para Lixiviado	0,5355	0,5645	0,7251	0,7129

Fuente: Esta investigación

Aplicando la ecuación 43 y teniendo en cuenta los resultados mostrados en la tabla 82 acerca del desarrollo del factor (UC * [P_T]muestra * 2) se tiene:

Método del Ácido ascórbico – Equipo Perkin Elmer Lambda 11

[P_T]muestra de agua cruda= 0,14297 ± 0,004326= (0,13864 - 0,14729)

[P_T]muestra de agua residual= 4,05962 ± 0,11763= (3,94200 - 4,1773)

[P_T]muestra de lixiviado= 22,45911 ± 0,5355= (21,92365 - 22,99456)

Método del Ácido ascórbico – Equipo Pharo 300

[P_T]muestra de agua cruda= 0,14255 ± 0,004435= (0,13812 - 0,14699)

[P_T]muestra de agua residual= 4,0638 ± 0,1228= (3,9409 - 4,1866)

[P_T]muestra de lixiviado= 22,508 ± 0,5645= (21,943 - 23,072)

Método del Cloruro estañoso – Equipo Perkin Elmer Lambda 11

[P_T]muestra de agua cruda= 0,14293 ± 0,003333= (0,13960 - 0,14626)

[P_T]muestra de agua residual= 4,05455 ± 0,1475= (3,90709 - 4,202)

[P_T]muestra de lixiviado= 22,50631 ± 0,7251= (21,78123 - 23,23138)

Método del Cloruro estañoso – Equipo Pharo 300

[P_T]muestra de agua cruda= 0,14284 ± 0,004984= (0,13786 - 0,14783)

[P_T]muestra de agua residual= 4,05383 ± 0,1467= (3,90714 - 4,201)

[P_T]muestra de lixiviado= 22,47605 ± 0,7129= (21,76314 - 23,18897)

➤ Contribuciones a la incertidumbre del análisis de Fósforo Total

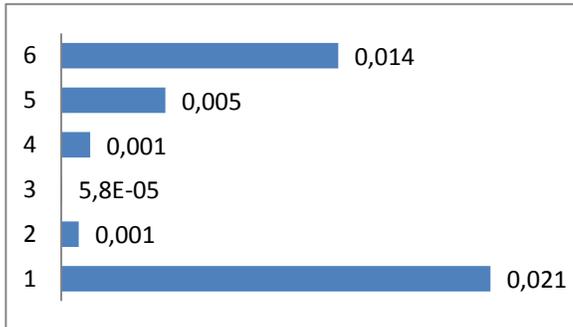
A continuación se muestran las gráficas de las contribuciones a la incertidumbre del análisis de fósforo total determinado en cada matriz (agua cruda, agua residual

y lixiviado) mediante cada método colorimétrico validado (cloruro estañoso y ácido ascórbico) y equipo (Perkin Elmer Lambda 11 y Pharo 300).

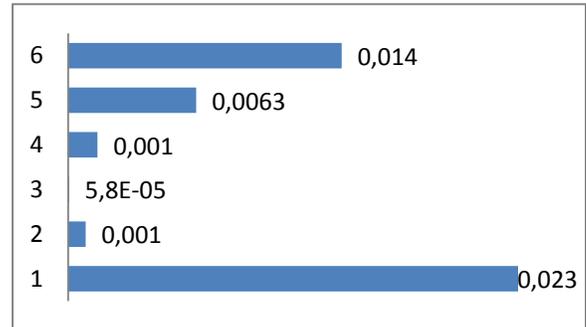
Donde:

- 1: Incertidumbre total
- 2: Incertidumbre debida a la concentración de la Solución patrón de fósforo (50ppm)
- 3: Incertidumbre debida a la concentración de la Solución intermedia (10ppm)
- 4: Incertidumbre debida a la Concentración de la Solución Estándar (1ppm)
- 5: Incertidumbre de la concentración de Fósforo total medido en el instrumento a través de la curva de calibración
- 6: Incertidumbre de la precisión de las muestras.

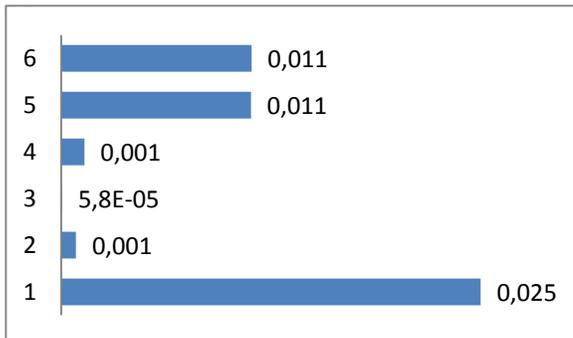
Gráfica 13. Contribuciones a la incertidumbre del análisis de Fósforo Total - Agua Cruda - Método Ácido Ascórbico - Equipo Perkin Elmer Lambda 11



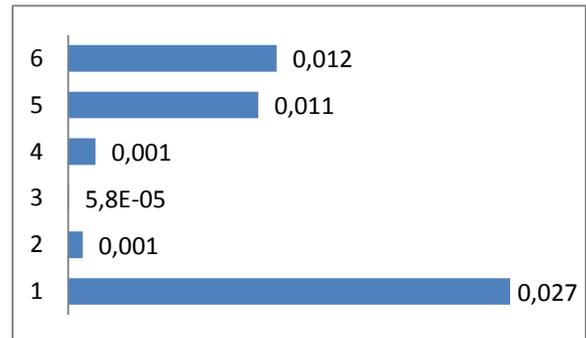
Gráfica 14. Contribuciones a la incertidumbre del análisis de Fósforo Total – Agua Cruda - Método Ácido Ascórbico – Equipo Pharo 300



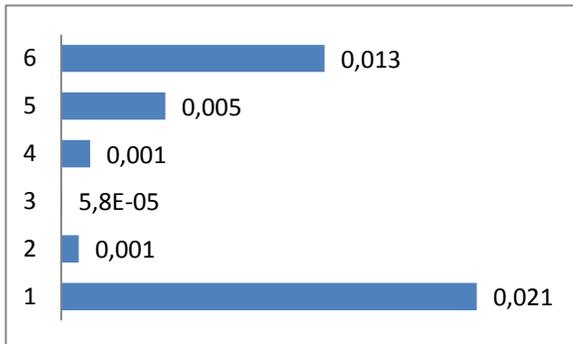
Gráfica 15. Contribuciones a la incertidumbre del análisis de Fósforo Total – Agua Cruda - Método Cloruro Estañoso – Equipo Perkin Elmer Lambda 11



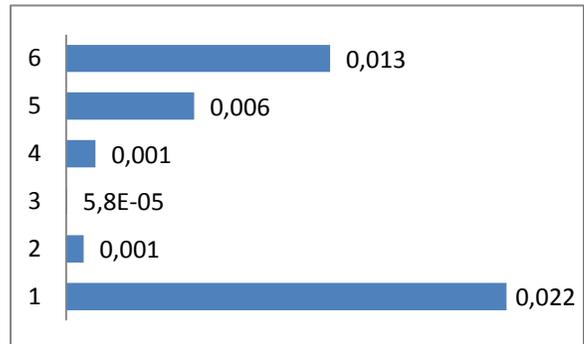
Gráfica 16. Contribuciones a la incertidumbre del análisis de Fósforo Total – Agua Cruda - Método Cloruro Estañoso – Equipo Pharo 300



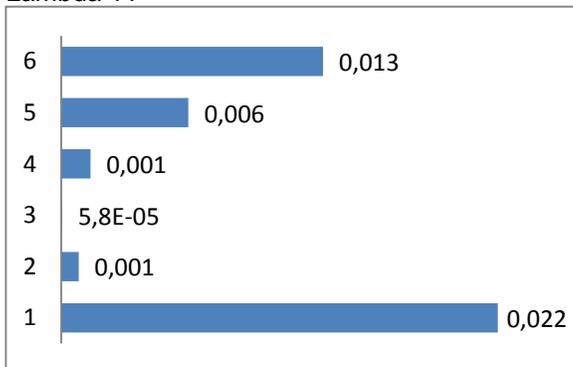
Gráfica 17. Contribuciones a la incertidumbre del análisis de Fósforo Total – Agua Residual - Método Ácido Ascórbico – Equipo Perkin Elmer Lambda 11



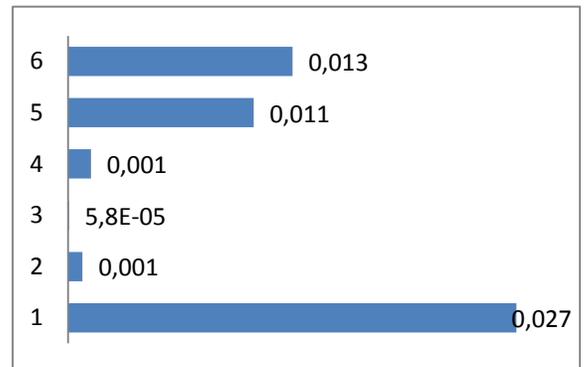
Gráfica 18. Contribuciones a la incertidumbre del análisis de Fósforo Total – Agua Residual - Método Ácido Ascórbico – Equipo Pharo 300



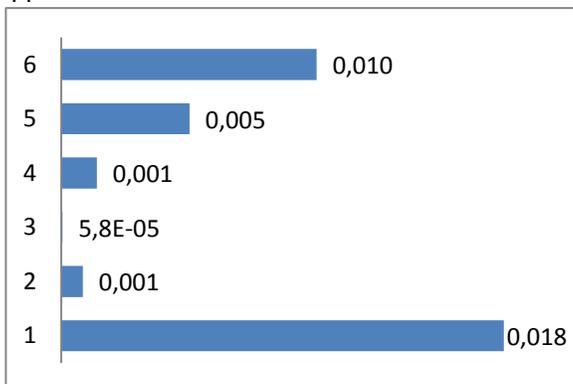
Gráfica 19. Contribuciones a la incertidumbre del análisis de Fósforo Total – Agua Residual - Método Cloruro Estañoso – Equipo Perkin Elmer Lambda 11



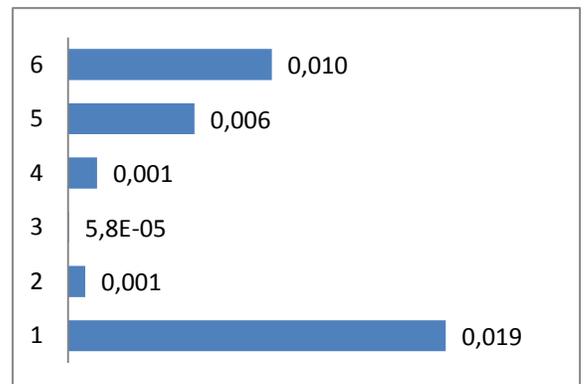
Gráfica 20. Contribuciones a la incertidumbre del análisis de Fósforo Total – Agua Residual - Método Cloruro Estañoso – Equipo Pharo 300



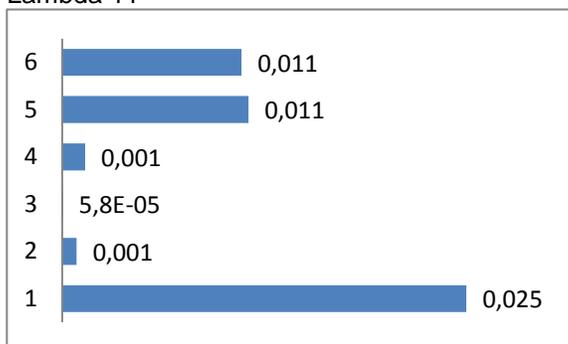
Gráfica 21. Contribuciones a la incertidumbre del análisis de Fósforo Total - Lixiviado - Método Ácido Ascórbico – Equipo Perkin Elmer Lambda 11



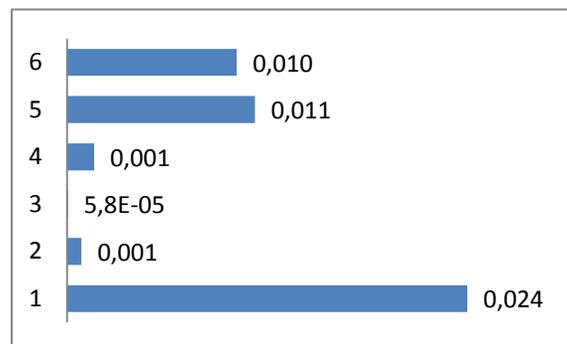
Gráfica 22. Contribuciones a la incertidumbre del análisis de Fósforo Total - Lixiviado - Método Ácido Ascórbico – Equipo Pharo 300



Gráfica 23. Contribuciones a la incertidumbre del análisis de Fósforo Total - Lixiviado - Método Cloruro Estañoso – Equipo Perkin Elmer Lambda 11



Gráfica 24. Contribuciones a la incertidumbre del análisis de Fósforo Total - Lixiviado - Método Cloruro Estañoso – Equipo Pharo 300



Los cálculos realizados para la estimación de la incertidumbre y las gráficas anteriores en donde se muestran las contribuciones a la incertidumbre del análisis de fósforo total, permitieron demostrar que de las fuentes de la incertidumbre de medición identificadas para los dos métodos colorimétricos validados (Cloruro estañoso y Ácido ascórbico), las que contribuyeron en mayor proporción fueron la incertidumbre debida a la concentración de Fósforo total medido en el instrumento a través de la curva de calibración y la incertidumbre de la precisión de las muestras, sin embargo a partir de los resultados obtenidos en el proceso de validación relacionados con la evaluación de la exactitud de los métodos analíticos indicaría que la incertidumbre no es significativa.

Finalmente después de realizar la validación de los métodos analíticos antes mencionados y la estimación de la incertidumbre de la medición, se elaboraron las guías de análisis para cada método validado (una para el método colorimétrico del cloruro estañoso y otra para el método colorimétrico del ácido ascórbico). Estos documentos le permitieron al Laboratorio de Análisis Químico y Aguas dar cumplimiento a los requisitos establecidos en la NTC/ISO/IEC 17025:2005, ya que además de la implementación, es importante que todas las actividades que se desarrollen dentro del laboratorio se encuentren debidamente documentadas.

CONCLUSIONES

Los resultados del diagnóstico de la situación actual en el Laboratorio de Análisis Químico y Aguas de la Universidad de Nariño con respecto al parámetro de fósforo total, indican el cumplimiento del 82% de los Requisitos de Gestión y el 71% de los Requisitos Técnicos. Sin embargo se hizo evidente el incumplimiento del numeral 5.4 de la norma que hace referencia a la validación de los métodos y a la estimación de la incertidumbre.

La efectividad del plan de acción implementado por el Laboratorio de Análisis Químico y Aguas de la Universidad de Nariño se evidenció con los resultados emitidos por la auditoría de re-acreditación realizada por el IDEAM, puesto que los hallazgos no conformes se redujeron en un 65%.

Con base en 4 criterios de aceptación para la linealidad (coeficiente de correlación $r \geq 0.995$, cálculo de la correlación lineal significativa, intercepto=0 y el análisis de varianza), se pudo concluir que la linealidad óptima para los métodos colorimétricos del cloruro estañoso y del ácido ascórbico se encuentra comprendida entre las concentraciones 0,1 ppm y 1,2 ppm; entre estos valores de concentración el análisis de las muestras se considera confiable.

La evaluación de la sensibilidad de los métodos verificados se hizo aplicando el contraste de significación t student y calculando T para un nivel de confianza del 95% a dos colas y n-2 grados de libertad. Como resultado para todos los casos (métodos colorimétricos: cloruro estañoso y ácido ascórbico – equipos: espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 11 y espectrofotómetro Pharo 300), se obtuvo que el $T_{\text{Calculado}} > T_{\text{Tabulado}}$, lo que permite concluir que el modelo lineal de los métodos analíticos validados responden a los cambios de concentración.

Los resultados obtenidos en la evaluación de la precisión de los métodos analíticos mediante el parámetro HorRat, al encontrarse por debajo de 0,2 indican que existe una baja dispersión de los resultados con respecto al valor medio de las medidas, debido a que existe una adecuada formación y experiencia en la medición, implicando que los resultados obtenidos indiquen que el método aplicado entrega resultados repetibles y reproducibles a lo largo del intervalo de concentraciones evaluadas; de igual forma el resultado del ANOVA demuestra que el hecho de variar los factores día, método y equipo no afectan significativamente las estimaciones.

El parámetro exactitud se evaluó determinando el porcentaje de recuperación, así como también se calculó el sesgo, obteniéndose como resultado porcentajes de recuperación entre el 97% y el 98%, los cuales son considerados buenos; en tanto

que para el sesgo el t_{cal} fue menor al t_{crit} ; lo que indica que el sesgo obtenido para los métodos utilizados es aceptable.

La comparación de los métodos analíticos validados mediante la evaluación de los criterios de aceptación de linealidad y sensibilidad demostraron que el método colorimétrico del ácido ascórbico presentó mejores resultados, lo que indica que presenta mayor linealidad y sensibilidad que el método colorimétrico del cloruro estañoso.

Mediante la validación de los dos métodos usados para el análisis de fósforo total en aguas y lixiviados y con la estimación de la incertidumbre de medición asociada a éstos métodos colorimétricos, se asegura la calidad analítica de los resultados, debido a que se demostró y evaluó de manera objetiva y documentada la validez de los procedimientos utilizados para generar datos confiables.

APORTES

El presente trabajo de grado representa un significativo paso en la búsqueda de la acreditación del parámetro fósforo total debido a que con la validación de los dos métodos analíticos usados para su determinación, se logró ampliar el alcance del Laboratorio de Análisis Químico y Aguas.

Como resultado de la validación de los métodos colorimétricos del cloruro estañoso y del ácido ascórbico, se complementó el instructivo de validación de los métodos analíticos existente en el Laboratorio de Análisis Químico y Aguas de la Universidad de Nariño, se elaboraron las guías de análisis de los dos métodos validados, se documentaron e implementaron los métodos colorimétrico validados cumpliendo con los requisitos técnicos y de gestión establecidos en la NTC/ISO/IEC 17025. A través del desarrollo de este trabajo de grado, se demostró que los métodos analíticos para determinar fósforo total usados por el Laboratorio de Análisis Químico y Aguas, son apropiados para el uso específico previsto.

El método desarrollado en este trabajo de grado para la estimación de la incertidumbre constituye un aporte importante para la complementación del instructivo de la estimación de la incertidumbre elaborado por el Laboratorio de Análisis Químico de Aguas de la Universidad de Nariño.

RECOMENDACIONES

El éxito de la implementación de los resultados obtenidos en este trabajo de grado, depende del compromiso de la alta dirección del Laboratorio de Análisis Químico y Aguas en cuanto a la implementación y mantenimiento del sistema de gestión de calidad se refiere, mediante la planificación de cronogramas de validación de los métodos analíticos y de auditorías internas, la ejecución de programas de capacitación relacionados con la NTC/ISO/IEC 17025 y la programación de reuniones con el fin de evaluar el cumplimiento de esta norma internacional. Igualmente es importante hacer este proceso extensivo a todo el personal que hace parte de la sección de Laboratorios y Equipos de la Universidad de Nariño, ya que el aseguramiento de la calidad es una filosofía que se debe evidenciar en todos los procesos del laboratorio, lo que implica un esfuerzo grande para conseguir los objetivos propuestos.

Experimentalmente es importante establecer las condiciones de análisis a las cuales un método analítico funciona adecuadamente y con ello generar resultados confiables. Tanto para el método colorimétrico del Cloruro Estañoso como para el del Ácido Ascórbico, la creación de un ambiente oxidante es esencial para la completa conversión de las diferentes formas de fósforo a ortofosfato; por tanto las etapas críticas de estos métodos analíticos, fueron el proceso de digestión con ácido perclórico y el cambio de pH. Aunque para mitigar estos problemas y si el laboratorio cuenta con la infraestructura y equipos necesarios, por razones de facilidad, simplicidad y precisión, se pueden buscar alternativas como la digestión alcalina o ácida de las muestras con persulfato usando autoclave o calentamiento en microondas.

BIBLIOGRAFÍA

AGUILAR, Elsa María. Control de calidad analítico en un laboratorio de análisis de aguas. Tesis Maestría en Ciencias. Especialidad Química Analítica. Monterrey, NL: Universidad Autónoma de Nuevo León. 1990. 74p.

AGUILAR, A y CAMPOS, A. Curva de Ringbom, determinación de la zona de trabajo, determinación de la concentración óptima. Química Analítica Instrumental. [citado en 3 de julio de 2015]. Disponible en internet: <<https://es.scribd.com/doc/54752750/Lab-Oratorio-2-Curva-d-Ringboom#>>

AGUIRRE, Leticia. Validación de métodos analíticos. Barcelona: Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria, 2001. 331p.

AHUMADA, Diego. Reducción del efecto matriz en el análisis de residuos de plaguicidas mediante cromatografía de gases. Tesis de maestría en ciencias química. Bogotá D.C.: Universidad Nacional de Colombia. Facultad de ciencias. Departamento de química. 2010. 293p.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION, WATER POLLUTION CONTROL FEDERATION. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 22th ed. Denver, 2012. 10-159p.

AOAC INTERNACIONAL. Appendix F. Guidelines for Standar Method Performance. En: Guidelines for Dietary Suplementes and Botanicals. 2012, 32p.

ARBOLEDA, J. Teoría y práctica de la purificación del agua. Bogotá, Colombia: Mc-Graw Hill, 2000. 596p.

BOQUÉ, R, MAROTO, A. El análisis de la varianza (ANOVA). Comparación de múltiples poblaciones. Grupo de Cualimetría y Quimiometría. Universitat Rovira i Virgili. 2011.

BOQUÉ, Ricard. La selectividad en análisis químico. Grupo de Quimiometría y Cualimetría. Universidad Rovira Virgili. 2011.

CALVO, G. Nueva metodología para valorar la calidad de las aguas superficiales para su uso como clase 2 en Costa Rica. En: Revista Tecnología en Marcha. Julio, 2013. vol. 26, no. 2. p. 9-19

CÁRDENAS, Dayana. Validación de un método UV VIS para la cuantificación de fenoles totales en jarabe Vimang. Trabajo de grado Licenciatura en Ciencias Farmacéuticas. Instituto de Farmacia y Alimentos. 2006. 47 p.

CASTILLO, Beatriz.; GONZÁLEZ, Rolando. Protocolo de validación de métodos analíticos para la cuantificación de fármacos. En: Revista Cubana de Farmacia. Abril, 1996. vol .30 n.1, p. 1561-2988.

CENTRO NACIONAL DE METROLOGÍA y ENTIDAD MEXICANA DE ACREDITACIÓN. Guía técnica sobre trazabilidad e incertidumbre en las mediciones analíticas que emplean la técnica de espectrofotometría de ultravioleta-visible. México, Abril, 2008. 68p.

COLOMBIA. INSTITUTO DE HIDROLOGÍA, METEOROLOGÍA Y ESTUDIOS AMBIENTALES. Resolución No. 0042 (25, enero, 2011). Por la cual se otorga al Laboratorio de Análisis Químico y Aguas de la Universidad de Nariño, la acreditación en la NTC ISO/IEC 17025:2005. Bogotá, D.C.: El Instituto, 2011. 7p.

COLOMBIA. INSTITUTO DE HIDROLOGÍA, METEOROLOGÍA Y ESTUDIOS AMBIENTALES. Resolución No. 0063 (30, marzo, 2007). Mediante la cual se establece un periodo de transición para la aplicación de la Norma NTC/ISO/IEC 17025-2005 por parte de los laboratorios ambientales acreditados e interesados en el proceso de acreditación ante el IDEAM. Bogotá, D. C.: El Instituto, 2007. 3p.

COLOMBIA. INSTITUTO DE HIDROLOGÍA, METEOROLOGÍA Y ESTUDIOS AMBIENTALES. Resolución No. 3566 (11, diciembre, 2014). Por la cual se renueva el alcance de la acreditación al Laboratorio de Análisis Químico y Aguas de la Universidad de Nariño, para producir información cuantitativa, física y química para los estudios o análisis ambientales requeridos por las autoridades ambientales competentes. Bogotá, D.C.: El Instituto, 2014. 7p.

COOPERATION ON INTERNATIONAL TRACEABILITY IN ANALYTICAL CHEMISTRY AND A FOCUS FOR ANALYTICAL CHEMISTRY IN EUROPE. The Fitness for Purpose of Analytical Methods. A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. Guide to Quality in Analytical Chemistry. En: CITAC/EURACHEM Guide. 2002. 57p.

CORNELL, J. A. How to Apply Response Surface Methodology. En: American Society For Quality Control. 1990. Vol 18. p 21.

CORREA, J., IRAL, R. y ROJAS, L. Estudio de potencia de pruebas de homogeneidad de varianza. En: Revista Colombiana de Estadística. Junio, 2006. vol. 29, no.1. p. 57-76.

CUELLAR, Oscar Andrés. Validación, determinación de la trazabilidad y estimación de la incertidumbre del método del ácido ascórbico para la determinación de fósforo total y disponible total en el Laboratorio de Química Ambiental de la Universidad Tecnológica de Pereira. Trabajo de grado. Químico Industrial. Pereira: Universidad Tecnológica de Pereira. Facultad de Tecnología. Escuela de Química, 2012. 82p.

DE BORDA, Brian. Simultaneous determination of total nitrogen and total phosphorus in environmental waters using alkaline persulfate digestion and ion chromatography. En: Journal of Chromatography A. Octubre, 2014. 1369, p. 131-137

DEPARTAMENTO ADMINISTRATIVO DE LA FUNCIÓN PÚBLICA, RED UNIVERSITARIA DE EXTENSIÓN EN CALIDAD. Guía de Diseño para Implementar el Sistema de Gestión de la Calidad bajo la Norma Técnica de Calidad para la Gestión Pública NTCGP 1000:2004. Bogotá, D.C. Junio, 2007. 71p.

DÍAZ, W., GONZAGA, B., & CONTRERAS, N. Determinación del coagulante que permita la máxima remoción de fosfatos en agua cruda del río Otún. En: Revista Scientia Et Technica. Mayo, 2007. vol. 13, no. 34. p. 607-612.

DUFFAU, Boris; ROJAS, Fabiola. Validación de métodos y determinación de la incertidumbre de la medición. En: Guía Técnica 1. Diciembre, 2010. 70p.

FIGUEIRAS J. Validación de un método espectrofotométrico UV - VIS para la determinación cuantitativa de fenoles totales en la crema VIMANG. Tesis en la opción al Título de Licenciado en Ciencias Farmacéuticas. Instituto de Farmacia y Alimentos. Cuba: Universidad de La Habana. Facultad de Farmacología. Departamento de Lic. en Ciencias Farmacéuticas, 1999. 120p.

FUNDIBEQ, Fundación Iberoamericana para la Gestión de la Calidad. Análisis de Modo y Efecto de Falla. [citado en 26 julio de 2015]. Disponible en Internet: <http://www.fundibeq.org/opencms/export/sites/default/PWF/downloads/gallery/methodology/tools/amfe.pdf>

GAMARA FL, CORRER CJ, SATOM, PONTAROLO R. Desarrollo y validación de un método espectrofotométrico para cuantificación de ácido kojico. En: Ars Pharmaceutica, Abril, 2004. vol. 45 no. 2, p.145-153.

GARCÍA, Encarnación. Optimización, validación y modelización de un proceso de fabricación de comprimidos. Desarrollo de una aplicación interactiva multimedia. Tesis doctoral. Barcelona: Universidad de Barcelona. Facultad de Farmacia. 2001. 166p.

GUEVARA, Elia; SUAREZ Wilfredo y TAMAYO Pedro. El sistema de gestión en laboratorios de calibración para su acreditación. En: Ciencias Holguín. Octubre, 2014.vol. 20. No.4, p. 1-13.

HUANG, Xiao-Lan, Rate of phosphoantimonylmolybdenum blue complex formation in acidic persulfate digested sample matrix for total dissolved phosphorus determination: Importance of post-digestion pH adjustment. En: Talanta. Julio, 2008. vol. 77, no. p. 340-345.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONIZATION. Note for Guidance on Validation of Analytical Methods: Methodology. En: International Conference on Harmonization. Noviembre, 1995.

INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMALIZACIÓN Y CERTIFICACIÓN. Directrices para la auditoría de los sistemas de gestión de la calidad y/o ambiental. NTC-ISO 19011. Bogotá D.C.: El instituto, 2002. 39 p.

INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMALIZACIÓN Y CERTIFICACIÓN. Norma Técnica Colombiana NTC-ISO17000. Evaluación de la conformidad: vocabulario y principios generales, Bogotá. ICONTEC. 2005, 16 p.

INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMALIZACIÓN Y CERTIFICACIÓN. Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración. NTC-ISO/IEC 17025. Bogotá D.C.: El instituto, 2005. 35 p.

INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMALIZACIÓN Y CERTIFICACIÓN. Sistemas de gestión de la calidad. NTC-ISO 9000. Fundamentos y vocabulario. Bogotá D.C.: El instituto, 2005. 36 p

LLAMOSA, Luis E. Estudio de repetibilidad y reproducibilidad utilizando el método de promedios y rangos para el aseguramiento de la calidad de los resultados de calibración de acuerdo con la norma técnica NTC-ISO/ IEC 17025. En: Scientia Et Technica. Agosto, 2007.vol. 13, 35. p. 455-460.

MAHER, W. Determination of total phosphorus and nitrogen in turbid waters by oxidation with alkaline potassium peroxodisulfate and low pressure microwave digestion, autoclave heating or the use of closed vessels in a hot water bath: comparison with Kjeldahl digestion, En: Analytica Chimica Acta. Abril, 2002.vol. 463, no. p.283-293.

MAHER, W. Procedures for the storage and digestion of natural waters for the determination of filterable reactive phosphorus, total filterable phosphorus and total phosphorus, En: Analytica Chimica Acta. Abril, 1998. vol. 375, no. p. 5-47.

MEIFANG, Zhou. The effects of post-persulfate-digestion procedures on total phosphorus analysis in water. En: Water Research. Junio, 2004. vol. 38, no. p. 3893–3898

MOLINA, S. Estandarización de métodos de análisis para la determinación de nitratos, nitrito, compuestos fenólicos y aceites y grasas utilizados como indicadores de contaminación en aguas naturales y residuales industriales. Tesis Química. Colombia; Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ciencias, 2010. 227p.

MURPHY, J. & RILEY, J. A modified single-solution method for the determination of phosphate in natural waters. En: Analytical Chimica Acta. Septiembre, 1962. vol. 27, no. p. 31-36.

NATA. National Association of Testing Authorities. Guidelines for the validation and verification of quantitative and qualitative test methods. Octubre, 2013. 32p.

ORGANISMO NACIONAL DE ACREDITACIÓN DE COLOMBIA. La Acreditación en Colombia. Ministerio de Comercio, Industria y Turismo. Bogotá D.C.: El Organismo, 2010. 36p.

ORMAZA, Franklin. A comparison of methods for the determination of dissolved and particulate phosphorus in natural waters. En: Water Research. Febrero, 1996. vol. 30, no. 11, p. 2739-2747.

PAEZ, Lilian. Validación secundaria del método de filtración por membrana para la detección de coliformes totales *Escherichia coli* en muestras de agua para consumo humano en el Laboratorio de Salud Pública del Huila. Trabajo de grado Microbióloga Industrial. Bogotá D.C.: Universidad Pontificia Javeriana. Facultad de Ciencias. Carrera de Microbiología Industrial. 2008, 134p.

PARRA, Deiby y POPÓ Oscar. Documentación de la Norma Técnica Colombiana ISO/IEC 17025 en el Laboratorio de Metrología Topográfica en la Universidad del Quindío. Trabajo de grado Ingeniero Industrial. Pereira: Universidad Tecnológica de Pereira. Facultad de Ingeniería Industrial, 2010. 65p.

QUINTERO, L., RENDÓN, E., AGUDELO, Y., QUINTANA, S., & OSORIO, A. Determinación de indicadores para la calidad de agua, sedimentos y suelos, marinos y costeros en puertos colombianos. En: *Revista Gestión y Ambiente*, Enero, 2010. vol. 13, no. 3. p. 51-64.

RIVERA, Carlos. Uso de la ecuación de Horwitz en laboratorios de ensayos NMX-EC-17025. Simposio de metrología 2010.

RONALD, E W., RAYMOND, H. M., & SHARON, L. M. Probabilidad y Estadística para Ingenieros. 6 ed. México. Prentice – Hall Hispanoamérica S.A.

SAN SEBASTIÁN, M.; ARMSTRONG, B.; & STEPHENS, C. La salud de mujeres cerca de pozos y estaciones de petróleo en Ecuador. En: Revista Panamericana de Salud Pública. Junio, 2001. vol. 9, no. 6. p. 375-385.

SÁNCHEZ, Diana. Validación de métodos para la determinación en aguas superficiales de metales alcalinos (sodio y potasio) por absorción atómica a la llama y alcalinotérreos (calcio y magnesio) por volumetría con EDTA. . (En línea). Colombia. [citado en 10 de Septiembre de 2010]. Disponible en Internet:<http://gemini.udistrital.edu.co/comunidad/estudiantes/dililian/marco_4>

SEREVICHE, Carlos. Evaluación analítica para la determinación de fósforo total en aguas por el método del ácido ascórbico. En: COLCIENCIAS. Septiembre, 2003.vol. 7, no. 17. p. 37-41.

SISTEMA INTEGRADO DE GESTIÓN DE LA CALIDAD. Instructivo: Muestreo - Agua. Versión 4. Código: LBE-PRS-IN- 03. Proceso: Proyección Social. Octubre, 2014. 17p.

SKOOG, Douglas, WEST, Donald, HOLLER, F. James y CROUCH, Stanley. Fundamentos de Química Analítica. 8 ed. México, D.F.: Thomson, 2005. 1171p.

SKOOG, Douglas; WEST, Donald. Química analítica. 4 ed. Madrid, España: Mc Graw Hill, 1989. p. 648.

SKOOG, Douglas. HOLLER, James y CROUCH, Stanley. Principios de análisis instrumental. Traducido por María Bruna Anzures. 6 ed. México D.F.: Cengage Learning, 2008. 1038p.

SKOOG, Douglas, HOLLER, F. James., y NIEMAN, Timothy. Principios de Análisis Instrumental. 5 ed. Madrid, España: McGraw-Hill, 2001. 1070p.

TAYLOR, Jonh. CIHON, Cheryl. Statistical techniques for data analysis. 2 ed. New York: Chapman & Hall/CRC, 2004. p.103.

US.FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Guidance for industry: Q2B validation of analytical procedures: methodology. Rockville, MD: Noviembre, 1996. 10p.

VALCARCEL, A, RIOS, A. La calidad en los laboratorios analíticos, España 1992.

VALDIVIA, Rodes. Papel del INIMET en el aseguramiento metrológico y medio ambiente. En: Boletín Científico Técnico INIMET. Instituto Nacional de Investigaciones en Metrología. Julio, 2011. núm. 2, p. 38-44

VALENCIA, Jorge y Grupo de Investigación en Innovación y Empresarismo (GUIE). Estudio del impacto de la evaluación de la Conformidad en Colombia. Proyecto de investigación. Medellín: Universidad EAFIT Escuela de Administración, 2012. 127p.

WALFISH, Steven. Analytical Methods: A Statistical Perspective on the ICH Q2A and Q2B Guidelines for Validation of Analytical Methods. En: BioPharm International. Diciembre, 2006.6p

YAÑEZ, Yaneth y YAÑEZ, Raiza. Auditorías, Mejora Continua y Normas ISO: Factores clave para la evolución de las organizaciones. En: Ingeniería Industrial. Actualidad y Nuevas Tendencias. Julio, 2012. vol. 3. no. 9., p.83-92.

ANEXOS

Anexo A. Plan de Auditoría

	SISTEMA INTEGRADO DE GESTIÓN DE CALIDAD PLAN DE AUDITORÍA INTERNA DE CALIDAD	Código: SGC-PR-29 Página: 1 de 1 Versión: 2 Vigencia a partir de: 11/05/2010				
Objetivo del Plan: Realizar seguimiento al cumplimiento de los requisitos de la Norma Técnica Colombiana NTC ISO/IEC 17025:2005						
Alcance del Plan: Aplica para el Laboratorio de Análisis Químico y de Aguas						
Criterios: - Norma NTC ISO/IEC 17025:2005 - Manual de Laboratorios de Proyección Social - Requisitos legales						
Auditor Líder: Yanha Doracelly Ortiz Burbano		Equipo Auditor: Auditor Líder: Yanha Doracelly Ortiz Burbano Auditor Acompañante: Paula Andrea Páez Ordóñez				
Fecha, Hora y Lugar de la Reunión de Apertura: 20 de marzo de 2014 - 8:00 am - Jefatura de Laboratorios						
Fecha, Hora y Lugar de la Reunión de Cierre: 27 de marzo de 2014 - 6:00 pm - Jefatura de Laboratorios						
PROCESOS AUDITADO	DEPENDENCIAS A AUDITAR (RESPONSABLES)	FECHA	HORA	AUDITOR LIDER	AUDITOR ACOMPAÑANTE	ACTIVIDAD Y/O REQUISITO
Organización (Numeral 4.1)	Coordinadora Laboratorio Análisis Químico y Aguas - Jefe de la Sección de Laboratorios	20	8am - 10am	X		
Sistema de gestión (Numeral 4.2)	Coordinadora Laboratorio Análisis Químico y Aguas	20	10am - 12m	X		
Control de los documentos- Aprobación y Cambios (Numeral 4.3)	Coordinadora Laboratorio Análisis Químico y Aguas	20	2pm - 4pm	X		
Revisión de los pedidos ofertas y contratos (Numeral 4.4)	Coordinadora Laboratorio Análisis Químico y Aguas - Jefe de la Sección de Laboratorios	20	4pm - 6pm	X		
Subcontratación de ensayos y de calibraciones (Numeral 4.5)	Coordinadora Laboratorio Análisis Químico y Aguas					Este numeral no aplica por tal razón no se evaluó
Compras de servicios y suministros (Numeral 4.6)	Jefe de la Sección de Laboratorios	21	8am - 10am	X		
Servicio al cliente (Numeral 4.7)	Coordinadora Laboratorio Análisis Químico y Aguas - Auxiliar Recepción	21	10am - 12m	X		
Quejas (Numeral 4.8)	Coordinadora Laboratorio Análisis Químico y Aguas - Jefe de la Sección de Laboratorios	21	2pm - 4pm	X		
Control de trabajos de ensayos y de calibraciones no conformes (Numeral 4.9)	Coordinadora Laboratorio Análisis Químico y Aguas	21	4pm - 6pm	X		
Mejora (Numeral 4.10)	Coordinadora Laboratorio Análisis Químico y Aguas	25	8am - 10am	X		
Acciones correctivas (Numeral 4.11)	Coordinadora Laboratorio Análisis Químico y Aguas	25	10am - 12m	X		
Acciones Preventivas (Numeral 4.12)	Coordinadora Laboratorio Análisis Químico y Aguas	25	2pm - 4pm	X		
Control de los registros (Numeral 4.13)	Análisis Laboratorio Análisis Químico y Aguas	25	4pm - 6pm	X		
Auditorías Internas (Numeral 4.14)	Coordinadora Laboratorio Análisis Químico y Aguas - Jefe de la Sección de Laboratorios	26	8am - 10am	X		
Revisiones por la Dirección (Numeral 4.15)	Coordinadora Laboratorio Análisis Químico y Aguas - Jefe de la Sección de Laboratorios	26	10am - 12m	X		
Generalidades Técnicas (Numeral 5.1)	Análisis Laboratorio Análisis Químico y Aguas	20	8am - 10am		X	
Personal (Numeral 5.2)	Coordinadora Laboratorio Análisis Químico y Aguas - Jefe de la Sección de Laboratorios	20	10am - 12m		X	
Instalaciones y condiciones ambientales (Numeral 5.3)	Coordinadora Laboratorio Análisis Químico y Aguas - Analistas	20	2pm - 4pm		X	
Métodos de ensayo y de calibración y validación de métodos (Numeral 5.4)	Demanda Bioquímica de Oxígeno	Análisis Laboratorio Análisis Químico y Aguas	20	4pm - 6pm		X
	Demanda Química de Oxígeno	Análisis Laboratorio Análisis Químico y Aguas	21	8am - 10am		X
	Grasas y Aceites	Análisis Laboratorio Análisis Químico y Aguas	21	10am - 12m		X
	pH	Análisis Laboratorio Análisis Químico y Aguas	21	2pm - 4pm		X
	Sólidos Suspendedos Totales	Análisis Laboratorio Análisis Químico y Aguas	21	4pm - 6pm		X
Equipos (Numeral 5.5)	Técnicos Mantenimiento	25	8am - 10am		X	
Trazabilidad de las mediciones (Numeral 5.6)	Técnicos Mantenimiento	25	10am - 12m		X	
Muestreo (Numeral 5.7)	Coordinador de muestreo	25	2pm - 4pm		X	
Manipulación de (muestras) los items de ensayo y de calibración (Numeral 5.8)	Análisis Laboratorio Análisis Químico y Aguas	25	4pm - 6pm		X	
Aseguramiento de la calidad de los resultados de ensayo y de calibración (Numeral 5.9)	Análisis Laboratorio Análisis Químico y Aguas	26	8am - 10am		X	
Informe de los resultados (Numeral 5.10)	Coordinadora Laboratorio Análisis Químico y Aguas	26	10am - 12m		X	

